

---

Aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. Lars E. French

**Vergleich von in-vivo und in-vitro Tests in der  
Diagnostik der Metallallergie**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanmedizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Tamar Garibashvili  
aus  
Gardabani/Georgien

2019

---

---

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Thomas Peter

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Franz-Xaver Reichl

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Dr. rer. hum. biol. Burkhard Summer

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 28.03.2019

---

## Eidesstattliche Versicherung

Garibashvili Tamar

Ich erkläre hiermit an Eides statt,  
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema:  
Vergleich von in-vivo und in-vitro Test in der Diagnostik der Metallallergie

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient  
und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind,  
als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle  
einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder  
in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen  
Grades eingereicht wurde.

Regensburg, den 28.08.2018

Ort, Datum

T.Garibashvili

Unterschrift Doktorandin/Doktorand

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	3
1.1	Historische Entwicklung metallischer Implantatmaterialien .....	3
1.2	Probleme nach Implantation – Allergie gegen Implantatmaterialien .....	4
1.3	Klassifikation allergischer Reaktionen .....	5
1.4	Das allergische Kontaktekzem .....	6
1.4.1	Symptome .....	6
1.4.2	Immunologische Grundlagen des allergischen Kontaktekzems .....	6
1.5	Epidemiologie und Ätiologie des allergischen Kontaktekzems .....	7
1.6	Diagnostik der Kontaktallergie .....	8
1.7	Nickel, Chrom und Kobalt als wichtigste Kontaktallergene .....	9
1.7.1	Historie .....	9
2	Ziele der Arbeit .....	11
3	Materialien und Methoden .....	12
3.1	Patientenkollektiv .....	12
3.1.1	Implantatallergiesprechstunde .....	12
3.1.2	Art des Patientenkollektivs .....	12
3.2	Anamnestiche Daten .....	13
3.2.2	Auswertung .....	13
3.3	Epikutantest .....	14
3.3.1	Material und Ablesung .....	14
3.3.2	Bewertung des Epikutantests .....	15
3.3.3	Epikutantestsubstanzen .....	15
3.4	Lymphozytentransformationstest (LTT) .....	16
3.4.1	Material und Methoden .....	16
3.4.2	Testsubstanzen .....	17
3.4.3	Auswertung .....	18
3.5	Datenverarbeitung und Statistik .....	18
3.5.1	Auswertung .....	18
3.5.2	verwendete Programme .....	18
4	Ergebnisse .....	21
4.1	Charakteristika des Patientenguts .....	21
4.1.2	Anamnestiche Daten .....	22
4.2	Ergebnisse der Allergiediagnostik .....	23
4.2.1	Ergebnisse des Epikutantests .....	23
4.2.2	Charakteristika des ECT .....	25
4.3	Korrelation zwischen ECT und LTT bei der Metallallergiediagnostik .....	28
4.3.1	Welcher LTT-Ansatz korreliert am besten mit ECT .....	28
4.3.2	Korreliert der Stimulationsindex mit der Stärke der Epikutantestreaktion .....	35
4.4	Gibt es Unterschiede bei den SI-Werten zwischen Implantat Trägern und Blutspendern ohne Implantat? .....	43
5	Diskussion .....	48
5.1	Übersicht Metallallergie .....	48
5.2	Wie sensitiv ist der Epikutantest gegenüber der anamnestiche Metallunverträglichkeit? .....	49
5.2.1	Häufigkeit einer Kontraktallergie unter implantierten und	

---

nicht implantierten Patienten.....	49
5.2.2 Sensitivität und Spezifität des Epikutantests .....	51
5.3 welcher LTT-Ansatz korreliert am besten mit ECT und stimmen der SI-Werte mit Stärke der ECT-Reaktion überein?.....	52
5.4 Unterscheiden sich SI-Werte zwischen Implantatträgern und Blutspender ohne Implantate .....	54
6 Zusammenfassung .....	55
7 Anhang .....	56
8 Danksagung .....	59
9 Literaturverzeichnis .....	60

# 1 Einleitung

## 1.1 Historische Entwicklung metallischer Implantatmaterialien

Metallische Implantate wie Osteosynthesematerialien und Endoprothesen (künstliche Gelenke, Zahnimplantate) sind in der aktuellen Medizin unentbehrlich. Die ersten dokumentierten Metallverwendungen in der Chirurgie gehen auf Petronius zurück, der schon im 16. Jahrhundert Goldplatten zur Behandlung einer angeborenen Gaumenspalte verwendete [1]. Es folgte zunächst der Gebrauch von Eisen-, Gold-, Silber- und Bronzedrähten bis es ab Anfang des letzten Jahrhunderts zu einer Entwicklung von CrNi-Stählen und CoCr-Legierungen kam. Der Pionier der modernen Totalendoprothetik, P.Wiles führte im Jahre 1938 6 endoprothetische Operationen der Hüfte durch [2]. Vor etwa 70 Jahren wurden erste Titan-Legierungen hergestellt. Mittlerweile werden für fast alle Gelenke Prothesen mit verschiedenen Materialkombinationen, Mechanik und Befestigungsform angeboten, die neben den oben erwähnten Metallen Polyethylen und Keramik beinhalten. Für die Gelenkendoprothesen werden verschiedene Kombinationen von Metall-Metall-Paarungen, Metall-Polyethylen(PE)-Paarungen oder Keramik-PE-Paarungen verwendet [3]. Demgegenüber bestehen die für die Frakturbehandlung eingesetzte Osteosynthesematerialien entweder aus Titan basierten Materialien oder aus Metall(Legierungen), die z.B. bis zu 33 Gew.% Nickel sowie etwa 18 Gew.% Chrom enthalten [4]. Kobaltbasislegierungen, die auf Grund einer guten Verschleißbeständigkeit in der Endoprothetik breit eingesetzt werden enthalten etwa 60 Gew. % Kobalt, ca. 30% Chrom und etwa 1% Nickel und haben dadurch das Risiko einer allergischen Reaktion. Titanlegierungen, die als  $\alpha$ - und  $\beta$ -Legierungen vorkommen, bestehen aus Titan-Aluminium-Vanadium, Titan-Aluminium-Niob oder Reintitan und enthalten einen Titananteil von mindestens 87 Gew.%. Der Nickelanteil von 0,012-0,034 Gew.% in den Titanwerkstoffen ist deutlich geringer als in der Kobaltlegierung, allerdings kann hier mehr Abrieb entstehen [5,6].

## **1.2. Probleme nach Implantation – Allergie gegen Implantatmaterialien**

Allein in Deutschland wurden im Jahr 2011 232 320 Hüft- und 168 486 Knie-Endoprothesen eingesetzt. Etwa 9% davon waren Revisionsoperationen [7]. Die Gründe der Endoprothesenversagen können neben einer Fehlpositionierung und Implantatfrakturen Implantatassoziierte Infektionen sein, für deren Erkennung es gut etablierte diagnostische Maßnahmen gibt [8]. Neben diesen Faktoren berichten viele Publikationen über aseptische Lockerung als wichtigen Grund für Implantatversagen. Ursache dafür ist meist eine Entzündungsreaktion auf Abriebpartikel [9-16]. Außerdem wurden den Metallabriebpartikeln zytotoxische Effekte in-vitro zugeschrieben [17]. Im Laufe der Zeit werden im Körper Implantatkomponenten durch mechanischen Abrieb und elektrochemische Korrosion im Körper freigesetzt [16,17]. Zusätzlich können unterschiedliche Oberflächenpotentiale der Metalle eine galvanische Korrosion verursachen. Durch den Abrieb entstandene Partikel können sowohl im periimplantären Gewebe als auch in den regionalen Lymphknoten und in Organen gefunden werden. Gegenüber Chromionen, die aufgrund intrazellulärer Bindungen lange im Körper verweilen, werden Kobalt- und Nickelionen schnell ausgeschieden [19]. Letztendlich kann es zu einer allergischen Reaktion kommen, deren Ausprägung durch Material- und Gewebeeigenschaften, Lage und immunologische Reagibilität des Organismus bestimmt wird [20]. Über die mögliche Überempfindlichkeitsreaktion gegenüber Implantatmaterialien wurde schon in den 1960er-Jahren berichtet [21,22]. Klinisch kann sich eine Implantatallergie neben oben erwähnter aseptischer Implantatlockerung durch ein Ekzem, eine Wundheilungsstörung sowie anhaltende Schmerzen äußern [5,20,23-25].

### 1.3 Klassifikation allergischer Reaktionen

Den Begriff „Allergie“ als Ausdruck einer veränderten Reaktionslage auf eine fremde Substanz kreierte der Wiener-Kinderarzt Clemens von Pirquet im Jahre 1906. Er unterteilte zwischen zeitlich, qualitativ und quantitativ veränderter Reaktionsfähigkeit [26]. 15 Jahre später konnten Prausnitz und Küster die Serumübertragbarkeit einer Allergieanlage beweisen [27]. In den 60er Jahren wurden dafür verantwortliche „Reagine“ unabhängig voneinander von Ishizaka und Johansson als IgE-Moleküle identifiziert [28]. Unter Berücksichtigung verschiedener zugrundeliegender Mechanismen wurden die Überempfindlichkeitsreaktionen von Coombs und Gell in vier Typen eingeteilt [28]. Die Typ-I-bis Typ-III-Reaktionen werden durch Antikörper vermittelt, die Typ-IV-Reaktion durch T-Zellen.

- ❖ **Typ I:** anaphylaktische Reaktionen. Verursacht werden diese Reaktionen durch IgE-Antikörper, die durch ihre Bindung an die IgE-Rezeptoren der Mastzellen und basophilen Granulozyten deren Degranulation mit konsekutiver Freisetzung von Histamin, Leukotrienen und Prostaglandinen verursachen. Typische Krankheitsbilder sind Urtikaria, Angioödem, allergisches Asthma bronchiale sowie allergische Rhino-Konjunktivitis.
- ❖ **Typ II:** zytotoxische Reaktionen. Diese Reaktionen werden über Antikörper vermittelt, die durch ihre Bindung an zellständige Antigene eine Aktivierung von Komplement verursachen und konsekutiv zur Lyse der Zellen führen. Beispiele hierfür sind Autoimmunkrankheiten wie Goodpasture-Syndrom, Hashimoto Thyreoditis, Transfusionsreaktionen sowie medikament-induzierte Thrombopenie und hämolytische Anämie.

**Typ III:** Immunkomplex-vermittelte Reaktionen. Dieser Typ der Überempfindlichkeitsreaktion ist geprägt durch die Bildung von Immunkomplexen, die einerseits durch die Ablagerung in den Kapillaren und andererseits durch zusätzliche Aktivierung von Komplement zu Entzündung und Gewebsschäden führen können. Diese Prozesse sind bei verschiedenen Vaskulitiden, Serumkrankheit, exogen-allergischen Alveolitiden zu beobachten.



- ❖ **Typ IV:** Reaktionen vom verzögertem Typ. An diesen Reaktionen sind allergenspezifische Lymphozyten(T-Zellen) beteiligt. Typisch für diese Art der Überempfindlichkeit sind das allergische Kontaktekzem, Tuberkulinreaktion und Transplantatabstoßung.

## **1.4. Das allergische Kontaktekzem**

Diese Erkrankung stellt eine spezielle Form der Immunreaktion vom verzögerten Typ dar. Gekennzeichnet wird sie durch eine Entzündung der Haut, die über eine örtlich wirkende Noxe verursacht wird. Je nach der Dauer der Exposition kann sich eine akute oder chronische Form des Ekzems entwickeln. Die allergische Kontaktdermatitis setzt eine spezifische Sensibilisierung voraus, tritt daher nur bei entsprechend Sensibilisierten auf und neigt zu Bildung von Streuphänomenen.

### **1.4.1 Symptome**

Der Definition entsprechend läuft die Entzündung anfangs am Ort der Einwirkung der Noxen ab und ist charakterisiert durch ein juckendes Erythem und Ödem, dem eine spongiotische Bläschenbildung in der Epidermis zugrunde liegt. Im Normalfall ist nach einigen Tagen eine Schuppung erkennbar, die einen Abheilungsbeginn signalisiert. Eine fortbestehende oder rezidivierende Exposition der Noxen kann zur Entstehung einer subakuten oder chronischen Form der Dermatitis führen, die außer den gleichzeitig vorhandenen verschiedenen Morphen wie Erythem, Vesikel, Krusten eine Lichenifikation und hyperkeratotische-rhagadiforme Hautveränderungen beinhaltet [29].

### **1.4.2 Immunologische Grundlagen des allergischen Kontaktekzems**

Der Verlauf des allergischen Kontaktekzems wird in eine Sensibilisierungs- und eine Auslösephasen eingeteilt. Die Sensibilisierungsphase beginnt mit Kupplung einer niedermolekularen Substanz (Hapten) an eine Proteinstruktur der Haut. Nach einem komplexen Ablauf werden diese Konjugate in den regionalen Lymphknoten den naiven T-Zellen, mit passendem T-Zell-Rezeptor präsentiert. Hierdurch entstandene

allergenspezifische Th1 Zellen reichern sich schließlich am Ort der Exposition an. In der Auslösephase kommt es nach einem erneuten Hapten-Kontakt durch die allergenspezifischen Th1-Zellen zur Freisetzung von Zytokinen wie IL-1, IL-2, IFN- $\gamma$ .

### **1.5 Epidemiologie und Ätiologie des allergischen Kontaktekzems**

Nach aktuellen epidemiologischen Studien beträgt die Prävalenz des allergischen Kontaktekzems in der allgemeinen Bevölkerung ca. 7% und ist in den industrialisierten Ländern häufiger. Es besteht gegenüber dem Krankheitsbild keine geschlechtsspezifische Disposition. Neben den allgegenwärtigen Quellen der Allergenexpositionen ist die berufliche eine der häufigsten. Hierbei spielen neben Duft – und Konservierungsstoffen nickelhaltige Metalle eine entscheidende Rolle [30,31].

Ende letzten Jahrhunderts wurde eine Zunahme der Nickelallergie besonders bei jungen Frauen beobachtet. Die europäische „Nickel Directive“ schreibt in Antwort auf dieses Phänomen eine maximale Nickelfreisetzung aus Gebrauchsgegenständen vor, die langen Körperkontakt haben. Die Sensibilisierungsquote besonders der jungen Frauen ist laut neuer Untersuchungen rückläufig geworden, auch wenn Nickel weiterhin ein Vorreiter unter Kontaktallergenen bleibt [32]. Ebenfalls rückgängig scheinen die Neusensibilisierungen gegen Chromat nach Verwendung Chromat-armer Zemente. Demgegenüber sind steigende Fälle der Duft- und Konservierungsstoffallergien zu beobachten [33]. Trotz jahrelanger Forschungen ist zur Genetik der Kontaktallergie nicht viel bekannt; es wird angenommen, dass die genetischen Variationen eher bei einer schwachen Exposition eine Rolle spielen [34]. Auch scheint sich das Risiko für eine kutane Sensibilisierung zwischen Patienten mit oder ohne eine atopische Dermatitis kaum zu unterscheiden [35].

## 1.6 Diagnostik der Kontaktallergie

Der Epikutantest dient als zuverlässige In-vivo Methode zur Diagnostik einer Kontaktallergie, ist relativ einfach durchführbar und erlaubt die Sensibilisierung gleichzeitig gegen verschiedene Substanzen zu testen. Hierbei werden zu testende standardisierte Allergene mittels Pflaster auf den Rücken des Patienten aufgetragen und die Reaktionen nach 24, 48, 72 und wenn möglich 144 Stunden abgelesen. Im Falle einer vorhandenen Sensibilisierung kommt es zur Ausbildung einer Ekzemreaktion, die allerdings nicht unbedingt mit der Klinik korreliert. Dementsprechend muss von entsprechend geschulten Ärzten eine Testablesung nach definierten Kriterien erfolgen (siehe Leitlinie „Epikutantest“) und die Bewertung anhand der Klinik angestrebt werden. Das Risiko einer Neusensibilisierung eines „naiven“ Patienten ist allerdings sehr gering.

Der Lymphozytentransformationstest (LTT) ist eine In-vitro Methode um die zelluläre Hyperreagibilität gegenüber einem Allergen aufzudecken. Nachdem die Unterscheidung zwischen den in die großen Blasten proliferierenden Lymphozyten („Transformation“) von anderen Zellen Schwierigkeiten bereitete, wurde in den 60er Jahren die Detektion der Lymphozytenproliferation durch Einbau von radioaktiv markiertem Thymidin eingeführt [36]. Bei diesem Test werden durch direkte Zentrifugation gewonnene Lymphozyten enthaltende mononukleäre Zellen des peripheren Blutes („PBMC“) des Patienten und verdächtige Allergene mehrtägig zusammen inkubiert, was im Falle des Vorhandenseins speziell sensibilisierter T-Lymphozyten zu deren Proliferation führt.

Die signifikanten Unterschiede im LTT zwischen den Nickelallergikern und Kontrollpersonen wurden 1970 vom McLeod et.al beschrieben [37]. Später konnte von Al-Tawil die Bedeutung der unterschiedlichen Antigenkonzentrationen in den Testansätzen gezeigt werden. Er beobachtete eine schwache Korrelation zwischen der Epikutantest-Reaktionen und dem LTT, hervorgerufen durch niedrige Allergenkonzentrationen [38].

## 1.7.Nickel, Chrom und Kobalt als wichtigste Kontaktallerge

### 1.7.1 Historie

Chrom konnte Ende des 18.Jahrhunderts vom französischen Apotheker und Chemiker, Louis-Nicola Vauquelin erstmals als Chrom(III)-oxid aus einem vorher als Krokoiit bekanntem Mineral dargestellt werden [39]. Aufgrund seiner Beständigkeit gegen Korrosion wird es über 2 Jahrhunderte in der Stahlindustrie eingesetzt, zusätzlich findet es großen Gebrauch in verschiedenen Industriebereichen z.B. als Färbemittel, Holzschutzmittel, Entwicklerlösung etc. Schon Anfang des letzten Jahrhunderts, während der Bauphase der Pariser und Londoner Metro berichtete man über unter den Mauern endemisch auftretendes Handekzem, „Mauererkrätze“, das mit dem im verwendeten Zement vorkommendem Chrom in Zusammenhang gebracht wurde [40,41]. Besonders sensibilisierend wirken die drei- und sechswertigen Chromverbindungen [42]. Demgegenüber besitzt das metallische Chrom keine allergene Eigenschaften. Seit den 70er Jahren ist auch eine Kontaktallergie durch chromathaltige Lederwaren bekannt.

- ❖ Den Namen Kobalt erhielt das Metall Anfang des 18. Jahrhunderts vom schwedischen Chemiker Georg Brandt. Kobaltverbindungen wurden schon im Mittelalter als Färbemittel für Glas und Keramik verwendet. Die technische Bedeutung hat Kobalt erst seit Anfang des 20. Jahrhunderts zur Herstellung der Legierungen bekommen, die sich durch gute Härte auszeichnen. In der Natur kommt es fast nur in gebundener Form von Salzen oder Oxiden hauptsächlich zusammen mit Nickel und Kupfer vor. Erste Berichte über die Kontaktallergie durch Kobalt in den 60er Jahren betrafen größtenteils die Beschäftigten der Keramikindustrie und die Maurer [43]. Es sind auch Fälle der Kontaktsensibilisierung im Zusammenhang mit Schmuck beschrieben [44-46]. Kobalt- und Nickelallergien sind oft aufgrund des gemeinsamen Vorkommens der Metalle vergesellschaftet [46].
- ❖ Nickel wurde vom schwedische Chemiker Axel Fredrik Cronstedtin in reiner Form Mitte des 18.Jahrhunderts dargestellt. Es wird in der Stahlindustrie zur Reduktion der Korrosion und Erhöhung der Härte der Legierung breit angewendet und ist in vielen Gegenständen vorzufinden [47]. Es gibt wenige Orte, wo Nickel in gediegener(rein metallischer) Form gewonnen werden kann.

Hauptsächlich kommen seine Verbindungen in der Erde als Oxide oder Sulfide zusammen mit Kobalt, Kupfer, Platin und anderen Metallen vor. Schon Ende des 19. Jahrhunderts erkannte man Nickel als Ursache der Kontaktallergie [48].

## 2 Ziele der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit war es die Diagnostik bei Verdacht auf Metallallergie – speziell Metallimplantatallergie – in Bezug auf Epikutantest und Lymphozytentransformationstest zu vergleichen. Dies wurde anhand der Testergebnisse durchgeführt, die von Patienten der „Implantatallergie – Sprechstunde“ an der Klinik für Dermatologie und Allergologie vorlagen. Hierbei wurde eine statistische Analyse der Ergebnisse des Epikutan – und Lymphozytentransformationstests sowie der anamnestischen Metallunverträglichkeit durchgeführt um folgende Aussagen zu treffen:

1. Wie häufig zeigt sich eine Metallallergie im Epikutantest im Vergleich mit einer anamnestischen Metallunverträglichkeit?
2. Welcher Ansatz des Lymphozytentransformationstests korreliert am besten mit dem Epikutantest?
3. Korreliert der Stimulationsindex mit der Stärke der Epikutantest-Reaktion?
4. Gibt es Unterschiede bei den Stimulationsindex-Werten zwischen Implantatträgern und Blutspendern ohne Implantate auch wenn im Epikutantest keine Metallallergie gefunden wird?

## **3 Materialien und Methoden**

### **3.1. Patientenkollektiv**

#### **3.1.1 Implantatallergiesprechstunde**

Seit 2002 suchen Patienten mit Metallimplantaten oder Patienten vor einer bevorstehenden endoprothetischen Ersatzoperation beim klinischen Verdacht auf eine Metallallergie eine spezielle Implantatallergiesprechstunde an der Klinik für Dermatologie und Allergologie in München auf. Neben einer anamnestischen Datenerhebung und Hautinspektion unterziehen sich diese Patienten einem Epikutan- und Lymphozytentransformationstest. Nach integrierender Wertung der erhobenen Befunde/Testergebnisse kann die Aussage über die mögliche Metallallergie gemacht werden.

#### **3.1.2 Art des Patientenkollektives**

In dieser Arbeit wurden Daten ausgewertet von 816 Patienten, davon 623 Implantat-Träger (372w, 214m) und 181(158w, 23m) Blutspendern ohne Implantate, die zwischen 2005 und 2010 mit Verdacht auf eine Metallunverträglichkeit in der Dermatologische Klinik untersucht wurden. Die Altersspanne der Patienten liegt zwischen 14 und 93 Jahren. 496 Patienten hatten eine Knie-, 88 eine Hüftprothese und 78 Patienten sonstige Implantate. Unter „sonstige“ Implantate wurden Osteosynthesematerialien wie z.B. Nägel, Platten oder Schrauben zusammengefasst.

Eine genauere Beschreibung der Patientendaten ist im 4.Kapitel aufgeführt.

## 3.2. Anamnestische Daten

### 3.2.1 Anamnese bezüglich der Metall(implantat)unverträglichkeit

Für die anamnestische Datenerhebung wurde ein „Fragebogen zur Metallunverträglichkeit“ (siehe Anhang) eingesetzt. Hierbei wurden die in dieser Arbeit folgenden Punkte benutzt:

- 1) Angaben über eine bekannte kutane Metallunverträglichkeit, die Hautreaktionen auf Modeschmuck, Jeansknöpfe, Uhrarmbändern umfassen. Diese Daten lagen mit Antworten Ja und Nein in natürlich dichotomer Kategorie vor.
- 2) Von den Implantatträgern wurden folgenden Angaben für die weitere Datenanalyse herangezogen: Lokalisation des Metallimplantats, verwendete Materialien sowie Art der Implantat assoziierten Beschwerden.

### 3.2.2. Auswertung

Die oben angegebenen anamnestischen Daten wurden für die weitere Analyse entweder in SPSS oder in Excel aufgearbeitet und die Parameter folgendermaßen aufgelistet

**Geschlecht:** weiblich bzw. männlich

**Alter der Patienten:** wurde in folgenden statistischen Merkmalen dargestellt

- ✓ Minimum
- ✓ Maximum
- ✓ Spannweite
- ✓ Mittelwert
- ✓ Standardabweichung
- ✓ Median

**Implantiert:** Ja bzw. Nein

#### **Metallimplantat**

Diese wurden in zwei Kategorien unterteilt.

1. Gelenkprothese (Knie- und Hüftendoprothese)
2. Sonstiges –Osteosynthesematerialien, wie Schrauben, Platten, Nägel sowie Gelenkprothesen mit Lokalisation z.B. in der Schulter, im Kiefer oder Sprunggelenk.



### **Art der Implantat assoziierten Beschwerden:**

- ✓ Schmerzen
- ✓ Bewegungseinschränkung
- ✓ Schwellung, Erguss
- ✓ Rötung
- ✓ Ekzem
- ✓ Sonstiges

Diese Beschwerden wurden in natürlich dichotome Werte *Ja* und *Nein* eingeteilt. Zusätzlich wurde die Kategorie *unbekannt* berücksichtigt.

### **Klinische Metallunverträglichkeit:**

Darunter wurden die von Patienten berichteten Hautreaktionen auf Modeschmuck, Jeansknöpfe, Uhrarmbändern zusammengefasst. Die Einteilung dieses Merkmals erfolgte auch in *Ja* und *Nein*. Auch hier war die Kategorie *unbekannt* vorhanden.

## **3.3 Epikutantest**

### **3.3.1 Material und Ablesung**

Mit dem Epikutantest als „Provokationstest“ an der Haut, wird ermittelt ob eine Spättypallergie(Ekzemreaktion) vorliegt. Dabei werden bestimmte Testsubstanzen (verdächtige Allergene) in kleine Testkammern gegeben und mittels Pflasterstreifen auf den Rücken neben der Wirbelsäule des Patienten fixiert. Nach 48 Stunden werden die Pflasterstreifen entfernt und die Reaktion nach 48 und 72, teilweise auch nach 144 Stunden beurteilt. Zur genaueren Differenzierung von irritativen Reaktionen sollte die Ablesung der Testergebnisse von gut erfahrener Personal durchgeführt werden.

Die Ergebnisse des Epikutantests können durch intensive UV-Exposition, entzündliche Hautreaktionen sowie durch Einnahme immunmodulierender Medikation beeinflusst werden. Der Epikutantest bei diesem Patientenkollektiv wurde ausschließlich in der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der Universität München durchgeführt.

### 3.3.2 Bewertung des Epikutantests

Die Ergebnisse des Epikutantests werden nach den Richtlinien der DKG (Deutsche Kontaktallergie-Gesellschaft, Leitlinie zur Durchführung des Epikutantests) folgendermaßen bewertet:

Reaktionstypen	Morphologie
negativ (-)	keine Reaktion
einfach positiv (+)	Erythem, Infiltrat, evtl. diskrete Papeln
zweifach positiv (++)	Erythem, Infiltrat, Papeln, Vesikeln
dreifach positiv(+++)	Erythem, Infiltrat, konfluierende Vesikel
Irritativ	Seifeneffekte, Petechien, Blase, Nekrose
fraglich	Erythem ohne Infiltrat

Alle positiven Reaktionen an getesteten Substanzen an drei Ablesetagen wurden als positiver Epikutantest in dieser Arbeit gewertet. Alle negativen sowie fraglichen und irritativen Reaktionen wurden als negativ zusammengefasst. Die fehlenden Ergebnisse des Epikutantests erhielten in SPSS-Auswertung die Rubrik unbekannt.

### 3.3.3 Epikutantestsubstanzen

Für die Durchführung des Epikutantests wurde die Standardreihe sowie Implantatmetall- und Knochenzementreihe eingesetzt, die neben Metallen wie Nickel, Kobalt und Chrom Titan, Mangan, Molybdän und Vanadium sowie Knochenzementkomponenten beinhalten. Für unsere Fragestellung waren speziell die unten dargestellten Testsubstanzen interessant:

- ✓ Nickel: Nickel(2) sulfat  $6 \cdot H_2O$  (5,0%; VAS)
- ✓ Kobalt: Kobalt(2)chlorid  $6 \cdot H_2O$  (1,0%; VAS)
- ✓ Chrom : Kaliumdichromat (0,5%; VAS)

### 3.4. Lymphozytentransformationstest (LTT)

#### 3.4. 1. Material und Methoden

Der LTT dient der Bestimmung der zellulären In-vitro Immunität und wird seit den 60er Jahren mit unterschiedlichen Substanzen durchgeführt. Hierbei werden aus heparinisiertem venösem Blut über Dichtegradientenzentrifugation PBMC (periphere Blut-mononukleäre Zellen) abgetrennt, die Monozyten und Lymphozyten enthalten. Nach Resuspension in Kulturmedien werden in der Zellkultur (96-well-Platten) zu den Zellen die zu testenden Antigene zugesetzt und eine mögliche Aktivierung der enthaltenen T-Lymphozyten anhand der Proliferationsantwort beurteilt. Die Prüfansätze werden in einer Konzentrationsreihe mit teilweise 7 aufsteigenden Konzentrationen (z.B. 0,1µM, 1µM, 10µM, 100µM, 1000µM) eingesetzt. Öfter ist die Steigerung der allergen-spezifischen Proliferation nur bei einer oder zwei Konzentrationen festzustellen; besonders die höheren Konzentrationen können eine Proliferationshemmung, bedingt durch eine unspezifische Zelltoxizität verursachen. Neben Prüfansätzen und s.g. Negativkontrollen – Parallelansätzen ohne Zugabe eines stimulierenden Agens - werden in der Testung unspezifische z.B. Lektin oder Phytohemagglutinin und spezifische (Tetanus-Toxoid) Positivkontrollen einbezogen, die zeigen dass die isolierten Lymphozyten intakt und zu einer allergenspezifischen Reaktion befähigt sind. Nach Inkubation kommt es zu einer Zellproliferation, deren Maß nach Einbau des dazugegebenen radioaktiv markierten Thymidins in „count per minute“ (cpm) gemessen wird. Ein anschließend errechneter Quotient der absoluten Menge der eingebauten Radioaktivität aus Testansätzen und Negativkontrollen wird als Stimulationsindex(SI) bezeichnet. Die Werte  $\geq 3$  wurden als positiv bewertet und weisen auf eine Sensibilisierung hin [49].

Für diese Arbeit wurden die Ergebnisse der Testung, die das Laborpersonal durchführte, verwendet.

### 3.4.2. Testsubstanzen

In der Testung wurden folgende Testsubstanzen und Testmedien verwendet:

**Testmedien:** Es wurden folgende Mediumzusätze in den Ansätzen verglichen:

- Hitzeinaktiviertes vs. nicht-hitzeinaktiviertes Serum
- Humanes AB-Serum vs. autologes Blutspenderserum
- Mit / ohne Interferon alpha (125U/l)

**Testsubstanzen:**

	Nickel	Kobalt	Chrom
Konz. 1	NiSO <sub>4</sub> , 10 <sup>-4</sup> M	CoCl <sub>2</sub> , 10 <sup>-4</sup> M	CrCl <sub>3</sub> , 5x 10 <sup>-3</sup> M
Konz. 2	NiSO <sub>4</sub> , 5x10 <sup>-5</sup> M	CoCl <sub>2</sub> , 5x10 <sup>-5</sup> M	CrCl <sub>3</sub> , 2,5 x 10 <sup>-3</sup> M
Konz. 3	NiSO <sub>4</sub> , 2,5x10 <sup>-5</sup> M	CoCl <sub>2</sub> , 2,5x10 <sup>-5</sup> M	CrCl <sub>3</sub> , 10 <sup>-3</sup> M
Konz. 4	NiSO <sub>4</sub> , 10 <sup>-5</sup> M	CoCl <sub>2</sub> , 10 <sup>-5</sup> M	CrCl <sub>3</sub> , 7,5x 10 <sup>-4</sup> M
Konz. 5	NiSO <sub>4</sub> , 7,5x10 <sup>-6</sup> M	CoCl <sub>2</sub> , 7,5x10 <sup>-6</sup> M	CrCl <sub>3</sub> , 5x10 <sup>-4</sup> M
Konz. 6	NiSO <sub>4</sub> , 7,5x10 <sup>-6</sup> M	CoCl <sub>2</sub> , 7,5x10 <sup>-6</sup> M	CrCl <sub>3</sub> , 10 <sup>-4</sup> M
Konz. 7	NiSO <sub>4</sub> , 10 <sup>-6</sup> M	CoCl <sub>2</sub> , 10 <sup>-6</sup> M	CrCl <sub>3</sub> , 5x 10 <sup>-5</sup> M
Konz. 8			CrCl <sub>3</sub> , 2,5 x 10 <sup>-5</sup> M
Konz. 9			CrCl <sub>3</sub> , 10 <sup>-5</sup> M
Konz. 10			CrCl <sub>3</sub> , 5x 10 <sup>-6</sup> M
Konz. 11			CrCl <sub>3</sub> , 10 <sup>-6</sup> M

### 3.4.3. Auswertung

Die Ergebnisse des Test mit einem Stimulationsindex (SI)  $\geq 3$  wurden als positiv bewertet. Für die Auswertung wurden die SI-Werte  $< 3$  in *negative*,  $> 3$  und  $< 10$  *einfach positiv*, die Werte  $> 10$  *deutlich positive* unterteilt.

## 3.5 Datenverarbeitung und Statistik

### 3.5.1. Auswertung

Die Durchführung der statistischen Analyse erfolgte nach Beratung durch Mitarbeiterin des Instituts für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie (IBE) der Ludwig-Maximilians-Universität München. Für die Aufarbeitung der Daten wurden neben unten aufgeführten Programmen auf der Webseite der IBE angebotene Berechnung *Statistische Tests und Schätzung* in Anspruch genommen.

### 3.5.2. Verwendete Programme

- ✓ SPSS (Version 18.0)
- ✓ Excel (Version Windows XP)
- ✓ Word (Version Windows XP)

## SPSS

In dieser Arbeit wurden mit Hilfe dieses statistischen Programms eine Korrelation zweier diagnostischen Tests zur Detektion einer Metallallergie bestimmt. Dafür wurde eine Rangkorrelationsanalyse mit Bestimmung eines Korrelationskoeffizienten nach Spearman angewendet. Mit diesem Korrelationskoeffizienten werden Korrelationen auf ordinalem Skalenniveau beschrieben. Der Korrelationskoeffizient  $r_s$  erstreckt sich zwischen -1 und +1. Der maximaler Betrag 1 zeigt einen streng monotonen, je nach Vorzeichen, negativen oder positiven Zusammenhang. Für die Durchführung der Korrelationsanalyse wurden die Ableseergebnisse des Epikutantests nach jeweils 48-, 72- und 144-Stunden in vier Rangzahlen: 1 - keine Reaktion, 2 + einfach positive, 3 ++ zweifach positive, 4 +++ dreifach positive Reaktion dargestellt. Gegenüber diesen nominal skalierten Daten lagen die Ergebnisse des LTT in metrischer Form vor. Hierbei

wurde ein Umcodieren der SI-Werte in drei Rangzahlen vorgenommen; Den Werten  $< 3$  wurden als negatives Ergebnis Rang 1 zugeordnet, den Werten  $>3 <10$  als positives Ergebnis Rang 2 und den Werten  $> 10$  wurde Rang 3 erteilt als Ausdruck deutlich positiver Ergebnisse.

Für die Beurteilung der Gütekriterien des ECT wurden Kontingenztafeln (Mehrfeldtafeln) im SPSS gebildet. Anschließend wurden, wie oben erwähnt mittels auf der Webseite der IBE angebotenen *Diagnostischen Tests* Sensitivität, Spezifität und Likelihood-Quotienten berechnet. Sensitivität, Spezifität und Likelihood-Quotienten sind Gütekriterien eines diagnostischen Testverfahrens, das eingesetzt wird um größere Sicherheit bezüglich des Krankheitsstatus eines Patienten zu gewinnen. Dabei gibt die Sensitivität eine Wahrscheinlichkeit, dass der Test bei einer kranken Person positiv reagiert wieder. Die Spezifität beschreibt die Wahrscheinlichkeit, dass eine nicht erkrankte Person ein negatives Testergebnis zeigt. Likelihood-Quotient, auch Likelihood-Ratio (LR) genannt gibt an um wie viel Mal häufiger ein positives Testresultat bei Personen mit Erkrankung vorkommt im Vergleich zu Personen ohne Erkrankung. Eine „gute“ Likelihood Ratio für positive Testresultate (positive Likelihood Ratio), mit der die Posttestwahrscheinlichkeit deutlich erhöht werden kann, ist  $>10$ . Eine „gute“ Likelihood Ratio für negative Testresultate (negative Likelihood Ratio), mit der die Posttestwahrscheinlichkeit deutlich erniedrigt werden kann, ist  $<0.1$ .

Auch der Vergleich der LTT-Ergebnisse zwischen implantierten Patienten und Blutspendern ohne Implantate wurde mittels SPSS durchgeführt. Dafür wurde zunächst die Überprüfung der Verteilungsart der in „cpm“- und SI-Werten dargestellten Ergebnisse des LTT mittels modifiziertem Kolmogorov-Smirnov-Tests, des sog. Lilliefors-Tests vorgenommen. Da dieser Test eine signifikante Abweichung der Normalverteilung lieferte, wurde der Mittelwertvergleich durch den U-Test von Mann und Whitney vorgenommen, der Mittelwerte der unverbundenen Stichproben (implantiert versus nichtimplantiert) ohne Voraussetzung einer Normalverteilung vergleicht.

## **Excel**

Die graphische Darstellung der anamnestischen Daten wie „Art des Implantats“ und „Art der Beschwerden“ und des Vergleichs der LTT-Werte sowie Erstellung der Tabellen wurde in Excel vorgenommen.

## 4 Ergebnisse

### 1.1. Charakteristika des Patientenguts

In dieser Arbeit wurden Daten von 738 Patienten ausgewertet, die sich mit Verdacht auf Metallunverträglichkeit im Zeitraum 2006 bis 2010 in der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität München vorstellten.

#### Geschlechtsverteilung

Von den 738 Patienten waren 507 weiblich und mit 68% deutlich den 231 männlichen Patienten überlegen.

#### Alter

Das Altersmedian betrug ca. 65 Jahre bei einer Altersspanne zwischen 14 und 93 Jahren. Diese Parameter sind in der Tabelle 1 dargestellt.

Nichtimplantierte Patienten			Metallimplantatpatienten	
	Anzahl	Anteil	Anzahl	Anteil
<b>Geschlecht</b>				
Männer	34	19%	197	35%
Frauen	149	81%	358	65%
<b>Alter</b>				
Mittelwerte±SD	63±14		62±11	
Median	65		68	
Spannweite	25 88		14 93	

Tabelle 1: Charakteristika des Patientenguts



#### 4.1.2 Anamnestische Daten

##### Vorhandensein von Metallimplantaten

In diesem Patientenkollektiv besaßen 555 Patienten (75%), davon 385 (65%) weiblich ein oder mehrere Metallimplantate gegenüber 183 Patienten ohne Implantate. Auch hier war die Zahl der Frauen mit 81% überlegen.

##### Art des Metallimplantats

Die Patienten wurden nach Art des vorhandenen Metallimplantats wie es in Abbildung 1 zu sehen ist in folgende Kategorien *Gelenkprothesen*, *Osteosynthese*, *Oberflächenersatz* und *Sonstiges* eingeteilt. 478 Patienten hatten eine Gelenkprothese, 60 Osteosynthesematerialien, 31 einen Oberflächenersatz. Die Angaben fehlten bei 77 Patienten.

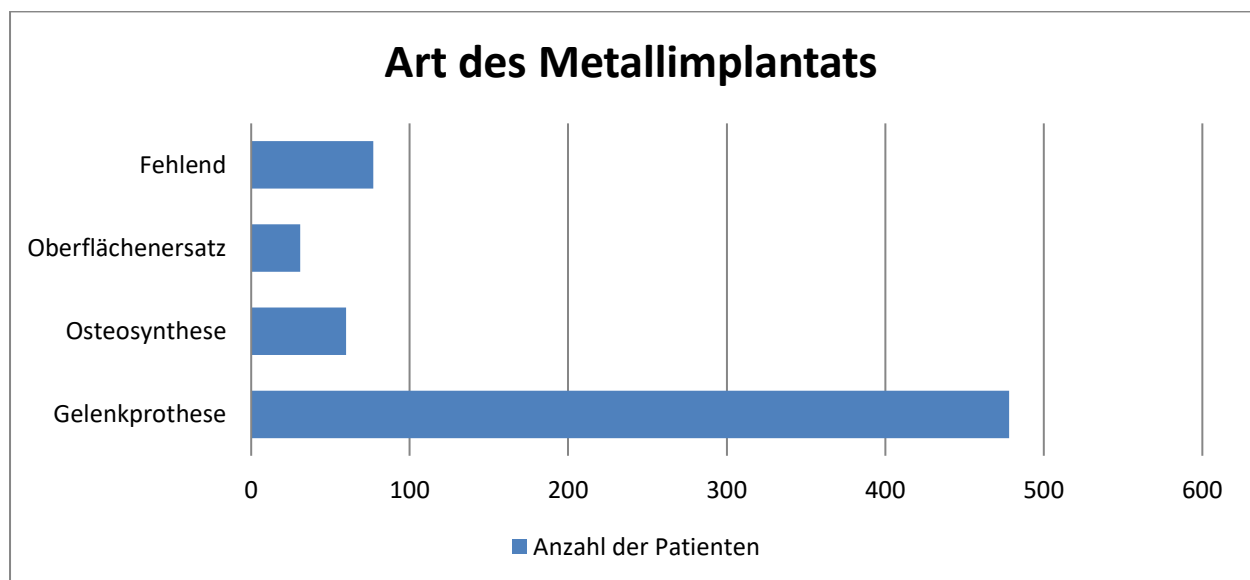


Abbildung 1: Art des Metallimplantats in 555 Patienten.

##### Metallunverträglichkeit

Darunter wurden eigene Angaben über Hautausschlag auf metallische Gegenstände wie z.B. Modeschmuck, Jeansknöpfe oder Armbanduhren zusammengefasst. Unter Patienten ohne Metallimplantate hatten deutlich mehr Patienten (72%) eine anamnestische

Metallunverträglichkeit. 32% der Gruppe der Metallimplantatträger zeigten eine anamnestische Metallunverträglichkeit. Dies ist in Abbildung 2 dargestellt.

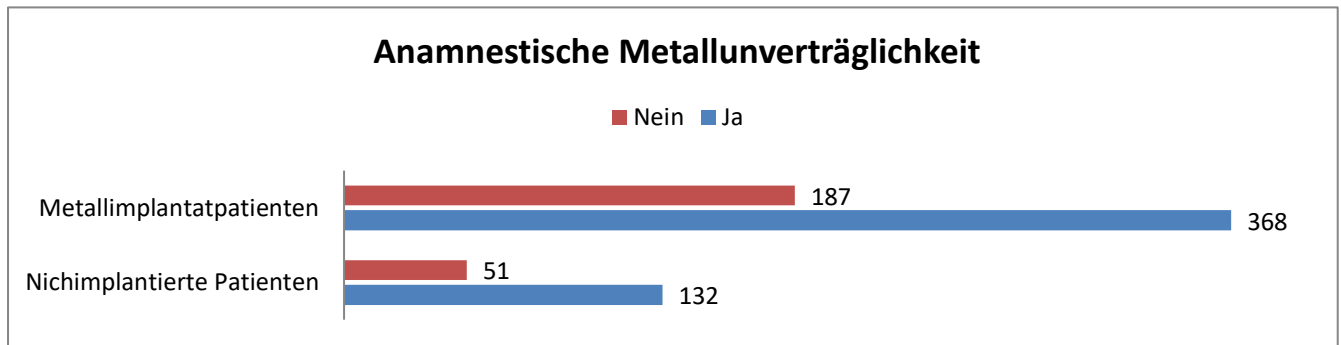


Abbildung 2: anamnestische Metallunverträglichkeit

Der hohe Anteil an Patienten mit berichteter „kutaner Metallunverträglichkeit“ resultiert daher, dass sowohl vor Primärendoprothetik als auch bei komplikationsbehaftetem Implantat präferentiell Allergieabklärung bei entsprechender Anamnese erbeten wurde. Dementsprechend liegt hier bereits eine Selektion des Krankengutes vor.

## 4.2 Ergebnisse der Allergiediagnostik

### 4.2.1 Ergebnisse des Epikutantests (ECT)

In dieser Arbeit wurden die Epikutantestergebnisse zu den drei Metallen - Nickel, Chrom und Kobalt ausgewertet.

Hierbei verwendete Testsubstanzen:

- ✓ Nickelsulfat
- ✓ Kobaltchlorid
- ✓ Kaliumdichromat

Die Beurteilung des ECT erfolgte nach 48, 72 und 144 Stunden. Von 738 Patienten lagen Ergebnisse der ECT-Reaktionen nur bei 672 (520 mit und 152 ohne Implantat) vor. Die Spätablesung (nach 144 Stunden) im Falle aller drei Metalle erfolgte bei 468 Implantatträgern und 102 Patienten ohne Implantate.

## Ergebnisse

Aus Tabelle 2 wird deutlich, dass positive ECT-Reaktion häufiger bei den Patienten vor Implantation auftreten. Diese Liste wird von Nickel angeführt mit insgesamt 35,2 % Nickel – allergischen Patienten bei Patienten ohne Implantate, gefolgt von insgesamt 9,6 % Kobalt-Allergie bei nichtimplantierten Patienten. Die Häufigkeit der Gesamt – Chrom – Allergie ist deutlich niedriger und beträgt bei Patienten ohne Implantate 3,9 % gegenüber 2,7 % bei implantierten Patienten. Die Tabelle 3 gibt einen Überblick über den Anteil der positiven ECT-Ergebnisse ohne Berücksichtigung des Implantatstatus. Anhand dieser beiden Tabellen wird eine Zunahme positiver ECT-Reaktionen bei Ablesungen nach 72 Stunden gegenüber der früheren Ablesung gezeigt, die sich besonders im Falle vom Nickel und Kobalt bemerkbar macht. Eine weitere deutliche Steigerung der positiven Reaktionen nach 144 Stunden ist bei nichtimplantierten Patienten im Falle von Nickel feststellbar; allerdings relativieren sich Ergebnisse dieser Beobachtung wie es der Tabelle 3 zu entnehmen ist unter Zusammenführung aller Patienten. Hierauf wurden für die in dieser Arbeit vorgenommene Auswertung die Ergebnisse der ECT-Reaktion nach der zweiten (72-Stunden) Ablesung verwendet.

Positive ECT-Reaktionen	Nichtimplantierte Patienten(n=152)*		Implantatpatienten(n=520)*	
	Anzahl	Anteil	Anzahl	Anteil
Nickelsulfat 48Std	29	19,2 %	38	7,4%
Nickelsulfat 72Std	43	28,3%	77	14,9%
Nickelsulfat 144Std	36	35,2%	74	15,8%
Chromchlorid 48Std	2	1,2%	4	0,8%
Chromchlorid 72Std	5	3,7%	12	2,4%
Chromchlorid 144Std	4	3,9%	12	2,7%
Kobaltchlorid 48Std	7	4,8%	16	3,1%
Kobaltchlorid 72Std	15	9,6%	39	7,5%
Kobaltchlorid 144Std	10	9,6 %	36	7,8%

**Tabelle 2: Häufigkeit positiver ECT-Reaktionen unter Implantatpatienten und Patienten ohne Implantate für Nickel, Chrom und Kobalt jeweils nach drei Ablesungen**

\*Die späte Ablesung erfolgte bei 102 nichtimplantierten und 468 implantierten Patienten.

ECT Reaktion nach 48, 72, 144 Stunden	negativ	pos. +	pos ++	pos +++	Verhältnis positiver Reaktionen/Gesamtzahl in %	
Kaliumdichromat 48 St	656	14	2	0	16/672	2,3%
Kaliumdichromat 72 St	638	23	2	0	25/ 663	3,9%
Kaliumdichromat 144St*	546	11	2	0	13/559	2,3%
Kobaltchlorid 48St	642	19	4	0	23/665	3,4%
Kobaltchlorid 72St	617	38	11	4	53/670	7,9%
Kobaltchlorid 144St*	525	31	13	1	45/570	7,8%
Nickelsulfat 48St	597	53	13	2	68/ 665	10,2%
Nickelsulfat 72St	544	68	44	10	122/ 720	17%
Nickelsulfat 144St*	452	63	47	9	119/ 572	20,8%

**Tabelle 3: ECT-Reaktionen ohne Berücksichtigung des Implantat Status für Nickel, Chrom und Kobalt jeweils nach drei Ablesungen und nach Stärke der positiver Reaktionen.**

\*Die späte Ablesung erfolgte bei 102 nichtimplantierten und 468 implantierten Patienten.

#### 4.2.2 Charakteristika des ECT

Es wurde versucht anhand der anamnestischen Angaben über die mögliche Metallunverträglichkeit und ECT-Reaktionen die Aussagen über Sensitivität und Spezifität des ECT treffen. Bei nicht einheitlicher Prävalenz der Metallallergie wurden neben der Sensitivität und Spezifität anstatt positiver und negativer prädiktiver Werte positive und negative Likelihood-Quotienten bestimmt. Wie es der Tabelle 4 zu entnehmen ist, lässt sich die größte Sensitivität im Falle vom Nickel, die bei späterer Ablesung von 23 % bis 38 % steigt, feststellen. Gefolgt wird Nickel, allerdings mit großem Abstand von Kobalt, mit 13%iger Sensitivität bei Beurteilung der ECT-Reaktion nach 144 Stunden. Auf Grund sehr niedriger Fallzahl der ECT-Reaktionen nach 144 Stunden bezüglich Chrom wurden bei

diesem Metall nur Ergebnisse der 48- und 72 Stunden Ablesungen für die Bestimmung der Gütekriterien des ECT verwendet. Hierbei zeigte sich eine sehr niedrige Sensitivität mit maximal 4%. Die errechnete Spezifität ist bei allen Metallen ausreichend groß und zeigt damit die Verlässlichkeit der Testung bezüglich der negativen Ergebnisse. Die positiven Likelihood-Quotienten erreichen Werte über 5 nur beim ECT mittels Nickel. Die negativen Likelihood-Quotienten liegen bezüglich aller Metalle unter 1, allerdings nicht unter dem optimalen Wert von 0,1.

## Ergebnisse

Sensitivität	Spezifität	LH+	LH-
ECT Ko-48 und KMU <sup>1</sup>			
0,06(0,03 0,1)	0,97(0,89 0,95)	2,4(1 6,05)	0,9(0,93 0,96)
ECT Ko-72 und KMU			
0,11(0,07 0,15)	0,93(0,89 0,95)	1,4(0,87 2,5)	0,9(0,92 1)
ECT Ko-144 und KMU			
0,13(0,08 0,17)	0,95(0,91 0,97)	1,3(0,9 2,4)	0,8(0,71 0,92)
ECT Cr-48 und KMU			
0,02(0,01 0,03)	0,98(0,96 0,99)	0,95(0,21 4,2)	0,7(0,67 0,97)
ECT Cr-72 und KMU			
0,04(0,02 0,06)	0,97(0,95 0,98)	1,26(0,5 2,8)	0,8(0,65 0,92)
ECT Ni-48 und KMU			
0,23(0,17 0,28)	0,98(0,96 0,99)	7,3(5,4 8,5)	0,7( 0,6 0,83)
ECT Ni-72 und KMU			
0,34(0,28 0,40)	0,96(0,90 0,99)	4,8(3,1 7,5)	0,6(0,54 0,87)
ECT Ni-144 und KMU			
0,38(0,32 0,45)	0,92(0,88 0,95)	5,4(3,4 8,5)	0,6(0,62 0,76)

**Tabelle 4: Gütekriterien des Epikutantests**

*KMU klinische Metallunverträglichkeit; Ko = Kobalt; Cr = Chrom; Ni = Nickel*

**Sensitivität = $RP/(RP+FP)$ , Spezifität= $RN/(RN+FN)$  RP richtig positiv; FP falsch positiv; RN richtig negativ; FN falsch negativ positive Likelihood Ratio = $Sensitivität/(1-Spezifität)$ ; negative Likelihood Ratio= $(1-Sensitivität)/Spezifität$**

**LH+ Das Wahrscheinlichkeitsverhältnis gibt das Verhältnis der Wahrscheinlichkeiten wieder, dass bei einer erkrankten Person ein positives oder negatives Testergebnis beobachtet wird, im Vergleich zur entsprechenden Wahrscheinlichkeit bei einer gesunden Person. Optimal wäre  $LR+ > 10$  bzw.  $LR- < 0,1$**

## 4.3 Korrelation zwischen ECT und LTT bei der Metallallergiediagnostik

### 4.3.1 Welcher LTT-Ansatz korreliert am besten mit ECT

Unter den in dieser Arbeit eingeschlossenen 738 Patienten wurde der LTT mittels unterschiedlichen Zellkulturmedien und unterschiedlichen Metallkonzentrationen durchgeführt. Deswegen werden die Ergebnisse in unterschiedlichen Gruppen dargestellt, die anhand der oben erwähnten Daten gebildet wurden. Auf Grund sehr niedriger Zahl der positiven Ergebnisse für Chrom und Kobalt im LTT werden nur die nickelbezogenen LTT-Daten ausgewertet.

Im LTT wurden folgende Nickelkonzentrationen verwendet:

- ✓  $\text{NiSO}_4 \times 10^{-4}\text{M}$ ,
- ✓  $\text{NiSO}_4, 5 \times 10^{-5}\text{M}$ ,  $\text{NiSO}_4, 2,5 \times 10^{-5}\text{M}$ ,  $\text{NiSO}_4 \times 10^{-5}\text{M}$ ,
- ✓  $\text{NiSO}_4, 7,5 \times 10^{-6}\text{M}$ ,  $\text{NiSO}_4, 5 \times 10^{-6}\text{M}$ ,  $\text{NiSO}_4, \times 10^{-6}\text{M}$ ,

Als Zellkulturmedien Zugaben dienten:

- ✓ Hitzeinaktiviertes 10% AB- und autologe(AU) Seren mit und ohne  $\text{INF-}\alpha$  (Alpha-Interferon)
- ✓ Nichthitzeinaktiviertes 10% AB- und autologe-Seren mit  $\text{INF-}\alpha$ .

#### Gruppenbildung nach LTT-Medium

- ✓ Gruppe 1: wurde von 356 Patienten gebildet, bei denen der LTT mittels dreier Nickelkonzentrationen:  $\text{NiSO}_4, 10^{-4}\text{M}$ ,  $\text{NiSO}_4, 10^{-5}\text{M}$ ,  $\text{NiSO}_4, 10^{-6}\text{M}$  und hitzeinaktiviertem, interferonsupplimentiertem 10% AB- und AU-Seren Kulturmedium durchgeführt wurde.

- ✓ Gruppe 2 wurde durch 121 Patienten gebildet. Hier wurden für die Testung ebenfalls wie in der Gruppe 1 drei Nickelkonzentrationen  $\text{NiSO}_4$  ( $10^{-4}\text{M}$ ,  $10^{-5}\text{M}$ ,  $10^{-6}\text{M}$ ) verwendet sowie INF- $\alpha$ -enthaltendes und INF- $\alpha$  freies Zellkulturmedium RPMI1640 verwendet. Außerdem war hitzeinaktiviertes AB- oder AU-Serum zugesetzt.
- ✓ Gruppe 3 besteht aus 60 Patienten. In dieser Gruppe war neben den drei oben erwähnten Nickelkonzentrationen als Kulturmedium RPMI1640 ergänzt mit hitzeinaktiviertem 10% AB-Serum mit oder ohne IFN- $\alpha$  Zusatz verwendet worden.
- ✓ Gruppe 4 enthält 164 Patienten, bei denen der LTT anhand von sieben Nickelkonzentrationen und hitzeinaktiviertem 10% AB- oder AU-Serum durchgeführt wurde.
- ✓ In der Gruppe 5 wurden für den LTT ebenfalls wie in der Gruppe 4 sieben Nickelkonzentrationen und nichthitzeinaktiviertes AB- oder AU-Serum verwendet.

Die für einzelne Gruppen berechnete Häufigkeit der positiven ECT- und LTT-Reaktionen gegenüber Nickel sowie ihre Übereinstimmung sind in den Tabellen 5-16 dargestellt. Deren Stärke wurde anhand des Korrelationskoeffizienten nach Spearman beurteilt. Bei fast gleicher Häufigkeit der positiven ECT-Reaktionen in allen Gruppen, ist der Anteil der positiven LTT-Reaktionen deutlich unterschiedlich. Hier ist bei der Testung, die mittels dreier Nickelkonzentrationen durchgeführt wurde eine eindeutig erhöhte Proliferationsrate der PBMC unter der höchsten Konzentration vom  $\text{NiSO}_4$ ,  $10^{-4}\text{M}$  zu beobachten, besonders dann wenn als Kulturmedium 10% AB-Serum verwendet wird (Tabellen 5 bis 12). Bezüglich des INF- $\alpha$  Zusatzes sind sowohl in der Gruppe 2 (Tabelle 7 bis 10) sowie in der Gruppe 3 (Tabelle 11 und 12) eine Abnahme der positiven LTT-Reaktionen feststellbar. Dieser hohe Anteil der positiven Reaktionen übersteigt meistens um das Doppelte den Anteil der positiven ECT-Reaktion. Unter der kleinsten Nickelkonzentration-  $\text{NiSO}_4$  ( $1 \times 10^{-6}\text{M}$ ) ist die Häufigkeit der positiver LTT-Reaktionen deutlich niedrig, ohne eindeutige Abhängigkeit vom Zellkulturmedium und unterliegt damit deutlich dem Anteil der positiven ECT-Reaktionen.

Die Häufigkeit der positiven LTT-Reaktionen unter der mittleren Nickelkonzentration-  $\text{NiSO}_4$ ,  $10^{-5}\text{M}$ , wie es den Tabellen 5 bis 12 zu entnehmen ist, liegt stets zwischen den Häufigkeiten, die unter den restlichen zwei Nickelkonzentrationen beobachtet werden. Der Anteil der positiven LTT-Reaktionen bei dieser Konzentration ist dem Anteil der positiven



## Ergebnisse

ECT-Reaktionen näherstehend. Im LTT der mit sieben Nickelkonzentrationen durchgeführt wurde ist ebenfalls unter abnehmender Konzentration eine Abnahme der positiven LTT-Reaktionen zu beobachten unabhängig vom Zellkulturmedium. Entsprechend sinkt auch die Übereinstimmung der positiven ECT- und LTT-Reaktionen (Tabelle 13 bis 17).

Der Korrelationskoeffizient nach Spearman, durch den eine Übereinstimmung neben den positiven auch für die negativen Reaktionen beschrieben wird, nimmt die höheren Werte unter der Konzentrationen  $\text{NiSO}_4$ ,  $2,5 \times 10^{-5}\text{M}$ ,  $\text{NiSO}_4$ ,  $1 \times 10^{-5}\text{M}$ ,  $\text{NiSO}_4$ ,  $5 \times 10^{-5}\text{M}$  in der abnehmenden Reihenfolge unter allen Zellkulturmedien. Die höchsten Werte und damit die beste Übereinstimmung von ECT und LTT sind im Falle des LTT, der mittels oben angegebener drei Konzentrationen und nichthitzeinaktiviertem 10% AB-Serum durchgeführt wurde, feststellbar (Tabelle 16).

Kulturmedium hitzeinaktiviertes 10% AB- Serum mit INF- $\alpha$ (Gruppe 1)	Insgesamt 356 Patienten		
	Anteil		
Metallkonzentrationen	$\text{NiSO}_4$ , $10^{-4}\text{M}$	$\text{NiSO}_4$ , $10^{-5}\text{M}$	$\text{NiSO}_4$ , $10^{-6}\text{M}$
Positive Reaktion im ECT	19%	19%	19%
Positive Reaktionen im LTT	43%	14%	9,8%
Positive Reaktion im ECT und LTT	14%	9%	4,5%
Spearman's $R_{\text{hor}_s}$	0,33	0,42	0,22

**Tabelle 5: Übereinstimmung der positiven Reaktionen im ECT und LTT, sowie die Korrelationsanalyse berechnet mittels dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman.**

Kulturmedium hitzeinaktiviertes 10% AU-Serum mit INF- $\alpha$ (Gruppe1)	Insgesamt 356 Patienten		
	Anteil		
Metallkonzentrationen	$\text{NiSO}_4$ , $10^{-4}\text{M}$	$\text{NiSO}_4$ , $10^{-5}\text{M}$	$\text{NiSO}_4$ , $10^{-6}\text{M}$
Positive Reaktion im ECT	19%	19%	19%
Positive Reaktionen im LTT	26%	13%	4,5%
Positive Reaktion im ECT und LTT	18%	11%	3,2%
Spearman's $R_{\text{hor}_s}$	0,31	0,39	0,22

**Tabelle 6: Übereinstimmung der positiven Reaktionen im ECT und LTT, sowie die Korrelationsanalyse berechnet mittels dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman.**

## Ergebnisse

Kulturmedium hitzeinaktiviertes 10% AB-Serum mit INF- $\alpha$ (Gruppe 2)	Insgesamt 121 Patienten		
	Anteil		
Metallkonzentrationen	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-4</sup> M	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-5</sup> M	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-6</sup> M
Positive Reaktion im ECT	17%	17%	17%
Positive Reaktionen im LTT	64%	26%	10%
Positive Reaktion im ECT und LTT	15%	13%	4,5%
Spearman's Rho <sub>s</sub>	0,45	0,61	0,42

**Tabelle 7: Übereinstimmung der positiven Reaktionen im ECT und LTT, sowie die Korrelationsanalyse berechnet mittels dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman.**

Kulturmedium 10% AU-Serum mit Interferon Alpha (Gruppe 2)	Insgesamt 121 Patienten		
	Anteil		
Metallkonzentrationen	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-4</sup> M	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-5</sup> M	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-6</sup> M
Positive Reaktion im ECT	17%	17%	17%
Positive Reaktionen im LTT	43%	16%	6,3%
Positive Reaktion im ECT und LTT	14%	10%	3,4%
Spearman's Rho <sub>s</sub>	0,39	0,51	0,34

**Tabelle 8 : Übereinstimmung der positiven Reaktionen im ECT und LTT, sowie die Korrelationsanalyse berechnet mittels dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman.**

Kulturmedium 10% AB-Serum Ohne Interferon Alpha (Gruppe2)	Insgesamt 121 Patienten		
	Anteil		
Metallkonzentrationen	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-4</sup> M	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-5</sup> M	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-6</sup> M
Positive Reaktion im ECT	17%	17%	17%
Positive Reaktionen im LTT	64%	22%	5,8%
Positive Reaktion im ECT und LTT	17%	13%	3,5%
Spearman's Rho <sub>s</sub>	0,42	0,61	0,25

**Tabelle 9 : Übereinstimmung der positiven Reaktionen im ECT und LTT, sowie die Korrelationsanalyse berechnet mittels dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman.**

## Ergebnisse

Kulturmedium hitzeinaktiviertes 10% AU-Serum ohne INF- $\alpha$ (Gruppe 2)	Insgesamt 121 Patienten		
	Anteil		
Metallkonzentrationen	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-4</sup> M	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-5</sup> M	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-6</sup> M
Positive Reaktion im ECT	17%	17%	17%
Positive Reaktionen im LTT	27%	13,5%	3,7%
Positive Reaktion im ECT und LTT	10%	6,7%	2,7%
Spearman's Rho <sub>s</sub>	0,34	0,28	0,27

**Tabelle 10: Übereinstimmung der positiven Reaktionen im ECT und LTT, sowie die Korrelationsanalyse berechnet mittels dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman.**

Kulturmedium mit 10% AB-Serum mit Interferon Alpha (Gruppe 3)	Insgesamt 60 Patienten		
	Anteil		
Metallkonzentrationen	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-4</sup> M	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-5</sup> M	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-6</sup> M
Positive Reaktion im ECT	20%	20%	20%
Positive Reaktionen im LTT	33%	5,3%	3,4%
Positive Reaktion im ECT und LTT	7,8%	3,4%	0%
Spearman's Rho <sub>s</sub>	0,14	0,36	-

**Tabelle 11 : Übereinstimmung der positiven Reaktionen im ECT und LTT, sowie die Korrelationsanalyse berechnet mittels dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman.**

Kulturmedium mit 10% AB-Serum Ohne Interferon Alpha (Gruppe 3)	Insgesamt 60 patienten		
	Anteil		
Metallkonzentrationen	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-4</sup> M	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-5</sup> M	NiSO <sub>4</sub> ,10 <sup>-6</sup> M
Positive Reaktion im ECT	20%	20%	20%
Positive Reaktionen im LTT	17%	3,4%	1,7%
Positive Reaktion im ECT und LTT	9,4%	1,8%	0%
Spearman's Rho <sub>s</sub>	0,36	0,32	-

**Tabelle 12: Übereinstimmung der positiven Reaktionen im ECT und LTT, sowie die Korrelationsanalyse berechnet mittels dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman.**

## Ergebnisse

Kulturmedium mit 10% hitzeinaktiviertem AB-Serum (Gruppe 4)	Insgesamt 164 Patienten							
	Anteil							
Konzentration NiSO <sub>4</sub> :	10 <sup>-4</sup> M	5x10 <sup>-5</sup> M	2,5x10 <sup>-5</sup> M	10 <sup>-5</sup> M	7,5x10 <sup>-6</sup> M	5x10 <sup>-6</sup> M	10 <sup>-6</sup> M	
Positive Reaktion im ECT	18%	18%	18%	18%	18%	18%	18%	
Positive Reaktion im LTT	68%	48%	28%	19%	13%	6,2%	0%	
Positive Reaktion im ECT und LTT	7,1%	14%	13%	10%	9,2%	5,7%	0%	
Spearman's Rho <sub>s</sub>	0,36	0,43	0,55	0,56	0,57	0,33	-	

**Tabelle 13: Übereinstimmung der positiven Reaktionen im ECT und LTT, sowie die Korrelationsanalyse berechnet mittels dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman**

Kulturmedium mit 10% hitzeinaktiviertem AU- Serum(Gruppe 4)	Insgesamt 164 Patienten							
	Anteil(%)							
Konzentration NiSO <sub>4</sub> :	10 <sup>-4</sup> M	5x10 <sup>-5</sup> M	2,5x10 <sup>-5</sup> M	10 <sup>-5</sup> M	7,5x10 <sup>-6</sup> M	5x10 <sup>-6</sup> M	10 <sup>-6</sup> M	
Positive Reaktion im ECT	18%	18%	18%	18%	18%	18%	18%	
Positive Reaktion im LTT	56%	41%	29%	16%	9,3%	6,0%	0%	
Positive Reaktion im ECT und LTT	17%	15%	15%	11%	6,8%	4,5%	0%	
Spearman's Rho <sub>s</sub>	0,46	0,51	0,58	0,56	0,47	0,33	-	

**Tabelle 14: Übereinstimmung der positiven Reaktionen im ECT und LTT, sowie die Korrelationsanalyse berechnet mittels des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman.**

## Ergebnisse

Kulturmedium mit 10% nicht hitzeinaktiviertem AB-Serum (Gruppe 5)	Insgesamt 45 Patienten							
	Anteil							
Konzentration NiSO <sub>4</sub> :	10 <sup>-4</sup> M	5x10 <sup>-5</sup> M	2,5x10 <sup>-5</sup> M	10 <sup>-5</sup> M	7,5x10 <sup>-6</sup> M	5x10 <sup>-6</sup> M	10 <sup>-6</sup> M	
Positive Reaktion im ECT	17%	17%	17%	17%	17%	17%	17%	
Positive Reaktion im LTT	70%	44%	25%	16%	8,3%	2,8%	0%	
Positive Reaktion im ECT und LTT	15%	15%	15%	12%	5,8%	2,9%	0%	
Spearman's Rho <sub>s</sub>	0,33	0,57	0,71	0,71	0,45	0,40	-	

**Tabelle 15: Übereinstimmung der positiven Reaktionen im ECT und LTT, sowie die Korrelationsanalyse berechnet mittels des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman.**

Kulturmedium mit 10% nicht hitzeinaktiviertem AU-Serum (Gruppe 5)	Insgesamt 45 Patienten							
	Anteil							
Konzentration NiSO <sub>4</sub> :	10 <sup>-4</sup> M	5x10 <sup>-5</sup> M	2,5x10 <sup>-5</sup> M	10 <sup>-5</sup> M	7,5x10 <sup>-6</sup> M	5x10 <sup>-6</sup> M	10 <sup>-6</sup> M	
Positive Reaktion im ECT	17%	17%	17%	17%	17%	17%	17%	
Positive Reaktion im LTT	76%	70%	40%	23%	9,3%	4,6%	0%	
Positive Reaktion im ECT und LTT	15%	18%	15%	10%	7,5%	2,5%	0%	
Spearman's Rho <sub>s</sub>	0,25	0,42	0,46	0,36	0,47	0,03	-	

**Tabelle 16: Übereinstimmung der positiven Reaktionen im ECT und LTT, sowie die Korrelationsanalyse berechnet mittels dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman.**

#### 4.3.2 Korrelation des Stimulationsindex mit der Stärke der Epikutantestreaktion (ECT)

Für die Klärung dieser Fragestellung wurde ebenfalls in unterschiedlichen, nach Testmedien unterteilten Gruppen eine Korrelationsanalyse vorgenommen. Je nach Stärke der ECT - Reaktionen und LTT - Reaktionen wurden entsprechend 4 oder 3 Ränge gebildet und deren Übereinstimmung anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman bestimmt. Diese Ergebnisse sind in den im Teil 4.3.1. dargestellten Tabellen gezeigt. Auch hier beschränkten wir uns auf Grund der sehr niedrigen Anzahl der positiven LTT Ergebnisse für Chrom und Kobalt nur auf Nickel. Wie den Tabellen zu entnehmen ist, zeigt sich im Falle niedriger Nickelkonzentrationen  $\text{NiSO}_4, 1 \times 10^{-6} \text{M}$  und  $\text{NiSO}_4, 5 \times 10^{-6} \text{M}$  unter allen Kulturmedien eine ebenfalls niedrige Übereinstimmung der ECT und LTT Ergebnisse. Teilweise liegen nach Stimulation mit  $\text{NiSO}_4, 1 \times 10^{-6} \text{M}$  die SI - Werte unter 3 und damit im negativen Bereich, so dass hierbei die Bildung der Ränge und damit Durchführung der Korrelationsanalyse nicht möglich ist. Die Übereinstimmungsstärke nimmt unter der im LTT verwendeten höchsten Nickelkonzentrationen  $\text{NiSO}_4, 1 \times 10^{-4} \text{M}$  zu; der Koeffizient  $r_s$  nimmt die Werte zwischen 0,32 und 0,46 an. Die Koinzidenz scheint am besten unter allen Kulturmedien in den Konzentrationen entsprechend der Reihenfolge  $\text{NiSO}_4, 2,5 \times 10^{-5} \text{M}$ ,  $\text{NiSO}_4, 1 \times 10^{-5} \text{M}$  und  $\text{NiSO}_4 5 \times 10^{-5} \text{M}$  ausgeprägt zu sein. Die grafische Darstellung der Koinzidenz der LTT und ECT Reaktionen zeigen die folgenden Abbildungen. Die Einteilung nach Gruppen erfolgte anhand der Kulturmedien. Für die ECT- Reaktionen wurden die ECT-Ableseergebnisse nach 72 Stunden verwendet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3-14 dargestellt.

## Ergebnisse

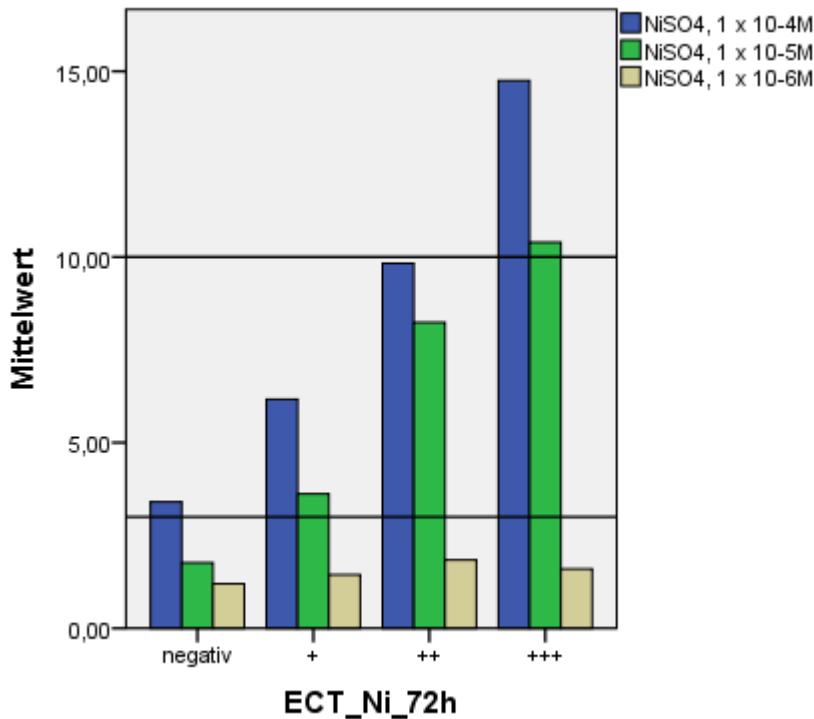


Abbildung 3: Gruppe 1 (356 Patienten) Übereinstimmung zwischen den Reaktionen im ECT und SI-Werten des LTT. Kulturmedium hier mit hitzeinaktiviertem 10% AB-Serum und mit INF- $\alpha$  und 3 Nickelkonzentrationen. Angegeben sind Mittelwerte des SI (Stimulationsindex).

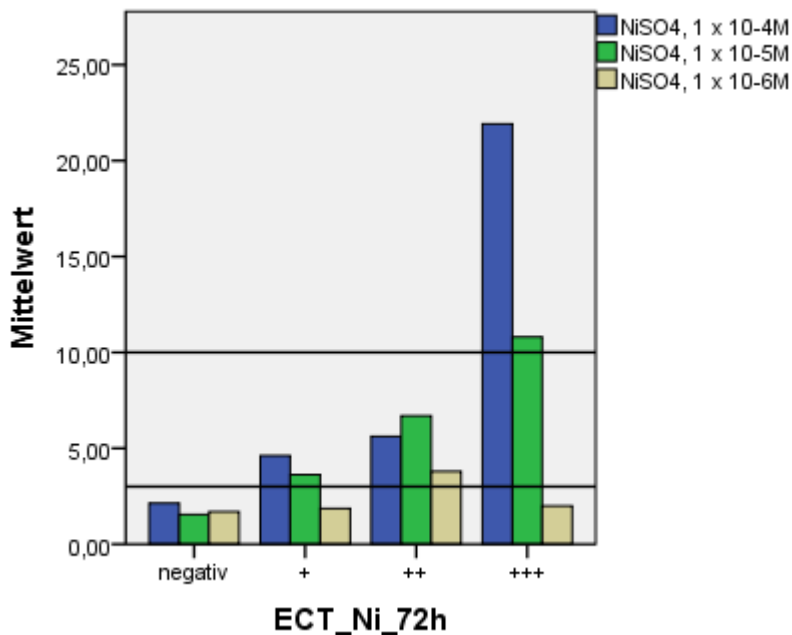


Abbildung 4: Gruppe 1 (156 Patienten) Übereinstimmung zwischen den Reaktionen im ECT und SI-Werten des LTT. Kulturmedium hier mit hitzeinaktiviertes 10% AU-Serum und mit INF- $\alpha$  und 3 Nickelkonzentrationen. Angegeben sind Mittelwerte des SI (Stimulationsindex).

Wie es den Abbildungen 3 und 4 zu entnehmen ist, besteht eine bessere Übereinstimmung der positiven Ergebnisse unter dem LTT-Kulturmedium mit 10% AB-Serum und mit INF- $\alpha$  Zusatz. Allerdings gibt es bei ECT negativen Patienten unter 10% AU-Serum keine positiven SI-Werte, was eine fast gleiche Übereinstimmung ( $r_s$  max. 0,41) für beide Gruppen ausmacht.

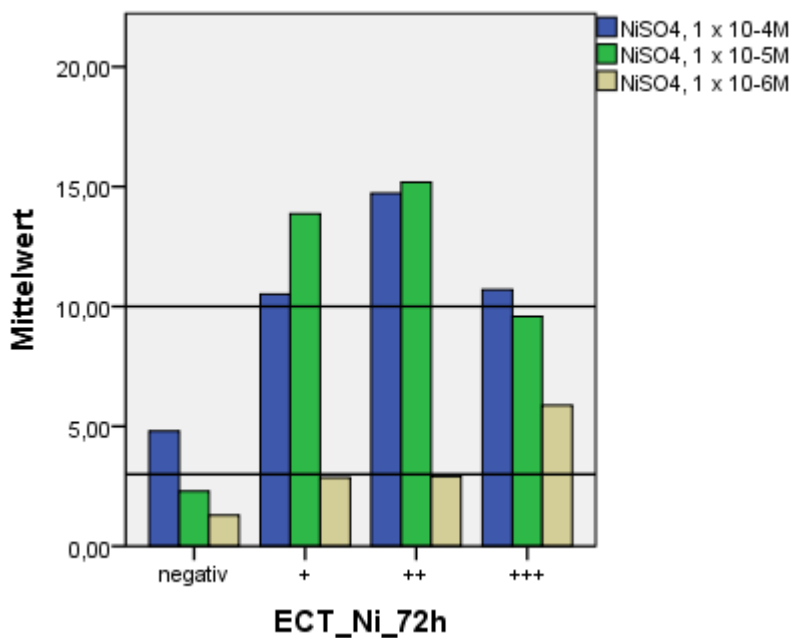


Abbildung 5: Gruppe 2 (121 Patienten) Übereinstimmung zwischen den Reaktionen im ECT und SI-Werten des LTT. Kulturmedium hier mit hitzeinaktiviertem 10% AB-Serum und mit INF- $\alpha$  und 3 Nickelkonzentrationen. Angegeben sind Mittelwerte des SI (Stimulationsindex).



## Ergebnisse

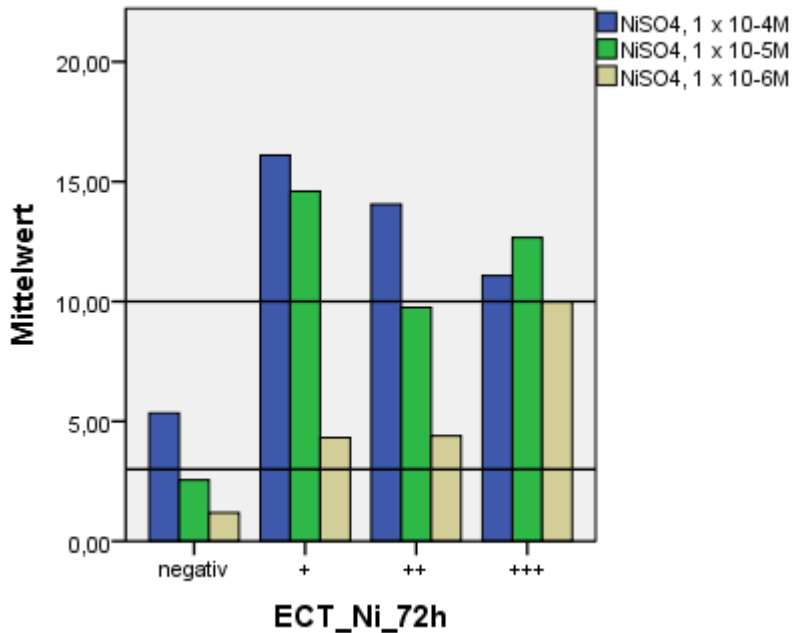


Abbildung 6: Gruppe 2 (121 Patienten) Übereinstimmung zwischen den Reaktionen im ECT und SI-Werten des LTT. Kulturmedium hier mit hitzeinaktiviertem 10% AB-Serum ohne INF- $\alpha$  und 3 Nickelkonzentrationen. Angegeben sind Mittelwerte des SI (Stimulationsindex).

In der Gruppe 2, (Abb. 5 und 6) in der als Kulturmedium RPMI1640 mit 10% AB- oder AU-Seren verwendet wurden mit und ohne INF- $\alpha$  Zusatz, ist unter INF- $\alpha$  freiem AB-Serum die größere Koizidenz der positiven Reaktionen zu beobachten. Anders sieht es unter Zusatz des AU-Serum aus; hier entsprechen zwei- und dreifach positiven ECT Reaktionen negative SI-Werte (siehe Abb.7 und 8).

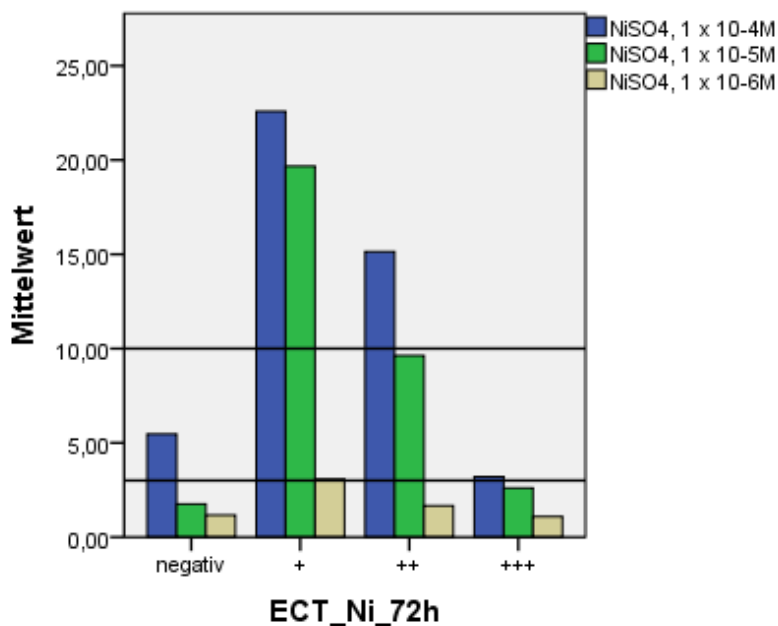


Abbildung 7: Gruppe 2 (121 Patienten) Übereinstimmung zwischen den Reaktionen im ECT und SI-Werten des LTT. Kulturmedium hier mit hitzeinaktiviertem 10% AU-Serum und mit INF- $\alpha$  und 3 Nickelkonzentrationen. Angegeben sind Mittelwerte des SI (Stimulationsindex).

## Ergebnisse

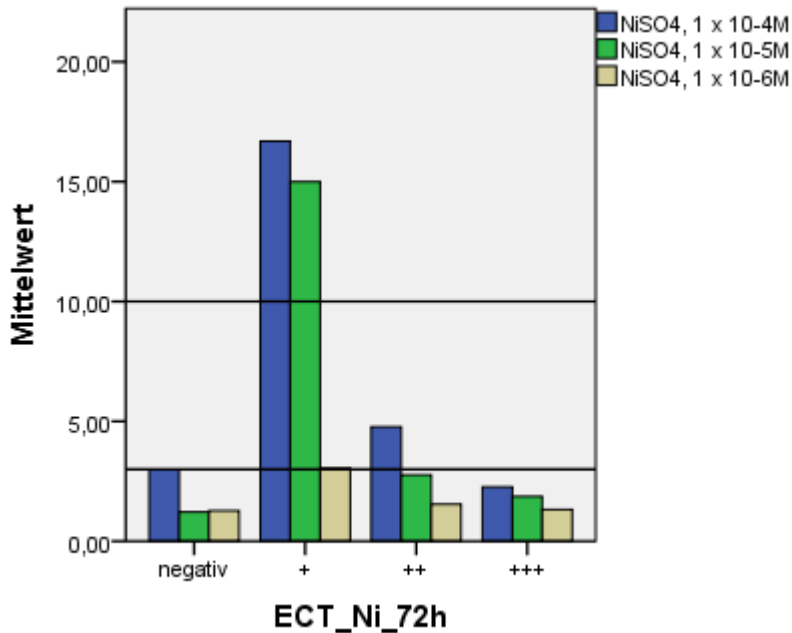


Abbildung 8: Gruppe 2 (121 Patienten) Übereinstimmung zwischen den Reaktionen im ECT und SI-Werten des LTT. Kulturmedium hier mit hitzeinaktiviertem 10% AU-Serum ohne INF- $\alpha$  und 3 Nickelkonzentrationen. Angegeben sind Mittelwerte des SI (Stimulationsindex).

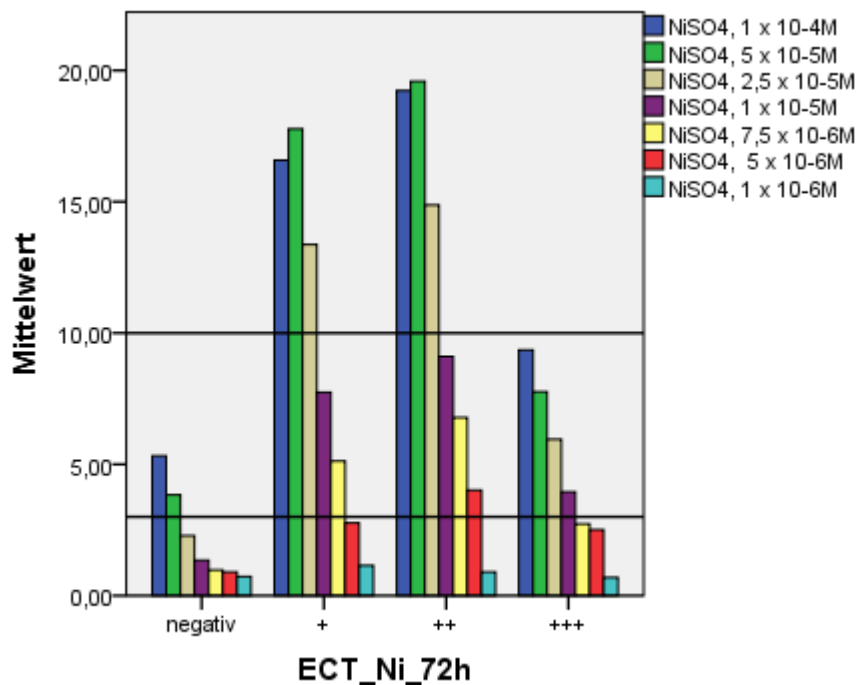
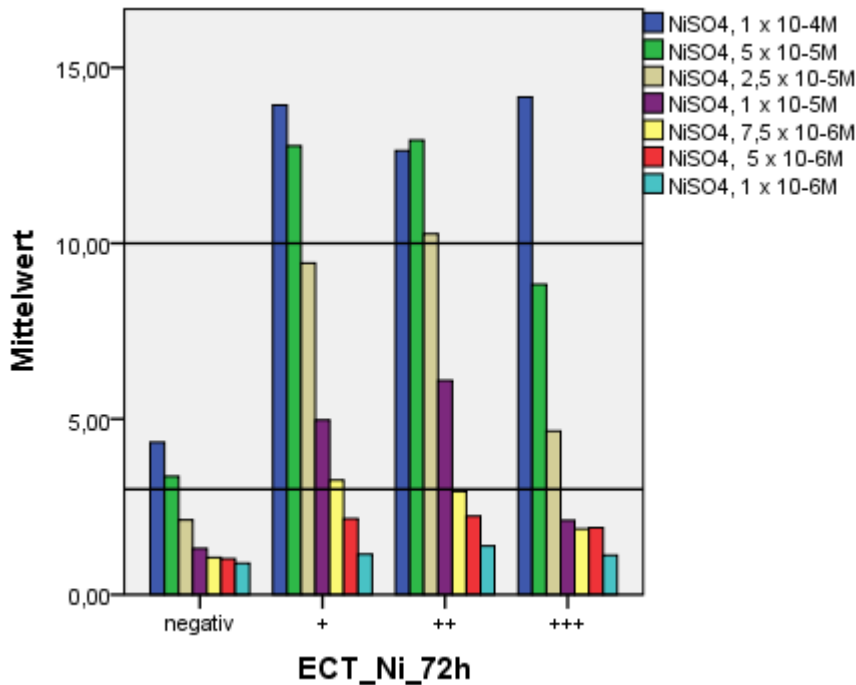


Abbildung 9: Gruppe 3 (164 Patienten) Übereinstimmung zwischen den Reaktionen im ECT und SI-Werten des LTT. Kulturmedium hier mit hitzeinaktiviertem 10% AB-Serum und mit INF- $\alpha$  und 7 Nickelkonzentrationen. Angegeben sind Mittelwerte des SI (Stimulationsindex).



**Abbildung 10: Gruppe 3 (164 Patienten) Übereinstimmung zwischen den Reaktionen im ECT und SI-Werten des LTT. Kulturmedium hier mit hitzeinaktiviertem 10% AU-Serum und mit INF- $\alpha$  und 7 Nickelkonzentrationen. Angegeben sind Mittelwerte des SI (Stimulationsindex).**

Die Koinzidenz der positiven ECT und LTT Reaktionen ist in der dritten Gruppe, dargestellt in Abb. 9 und 10, in der für den LTT sieben verschiedene Nickelkonzentrationen eingesetzt wurden, besonders unter Nickelkonzentrationen NiSO<sub>4</sub>, 5x10<sup>-5</sup>M und NiSO<sub>4</sub>, 2,5x10<sup>-5</sup> M im Falle beider Kulturmedien zu beobachten. Entsprechend nehmen die Korrelationskoeffiziente hohe Werte bis 0,55 an.

Bei 45 Patienten, die in der Gruppe 4 zusammengefasst sind, wurde der LTT mittels Zusatz von 10% nicht hitzeinaktiviertem AB- oder AU-Serum durchgeführt. Der Ansatz wurde mit sieben Nickelkonzentrationen durchgeführt. Hierbei waren keine dreifach positive ECT Reaktionen zu verzeichnen. Gute Korrelation war weiterhin wie in der Gruppe 3 zu beobachten unter Nickelkonzentrationen NiSO<sub>4</sub>, 5x10<sup>-5</sup> M und NiSO<sub>4</sub>, 2,5x10<sup>-5</sup> M besonders im Kulturmedium als 10% AB-Serum. Der entsprechende Korrelationskoeffizient  $r_s$  beträgt 0,71. Abb. 11 und 12.

## Ergebnisse

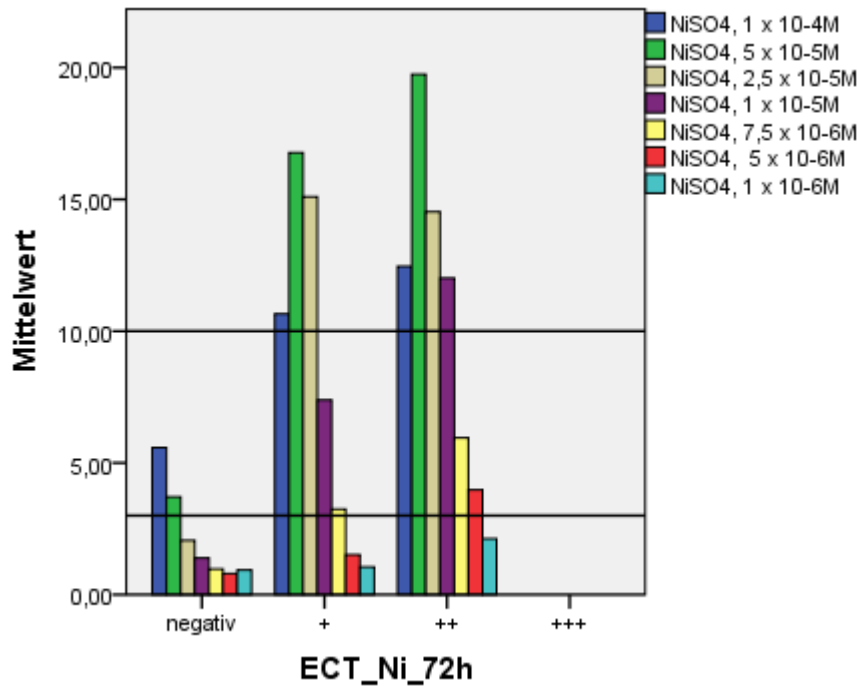


Abbildung 11: Gruppe 4 (45 Patienten) Übereinstimmung zwischen den Reaktionen im ECT und SI-Werten des LTT. Kulturmedium hier mit nicht hitzeinaktiviertem 10% AB-Serum und mit INF- $\alpha$  und 7 Nickelkonzentrationen. Angegeben sind Mittelwerte des SI (Stimulationsindex).

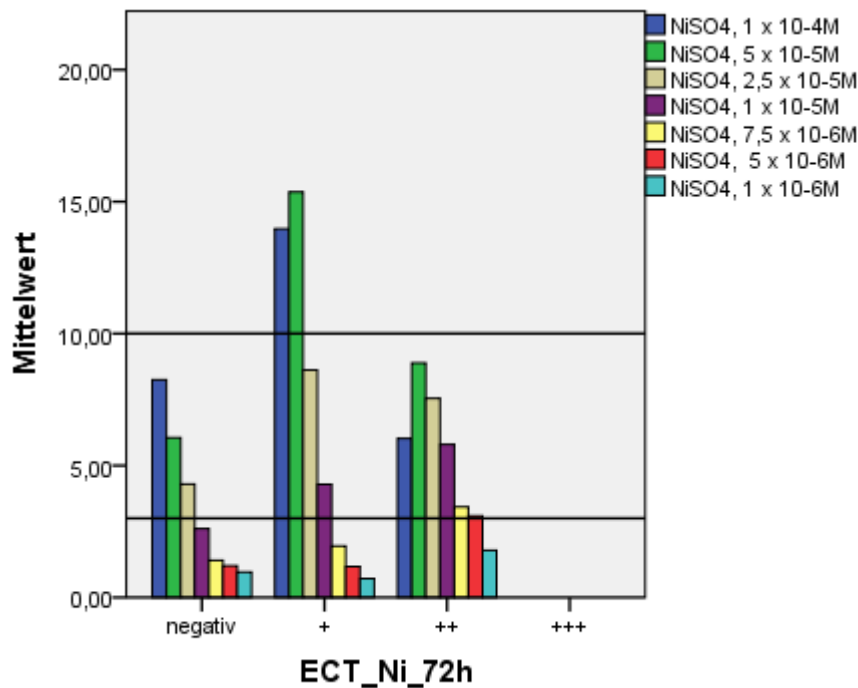
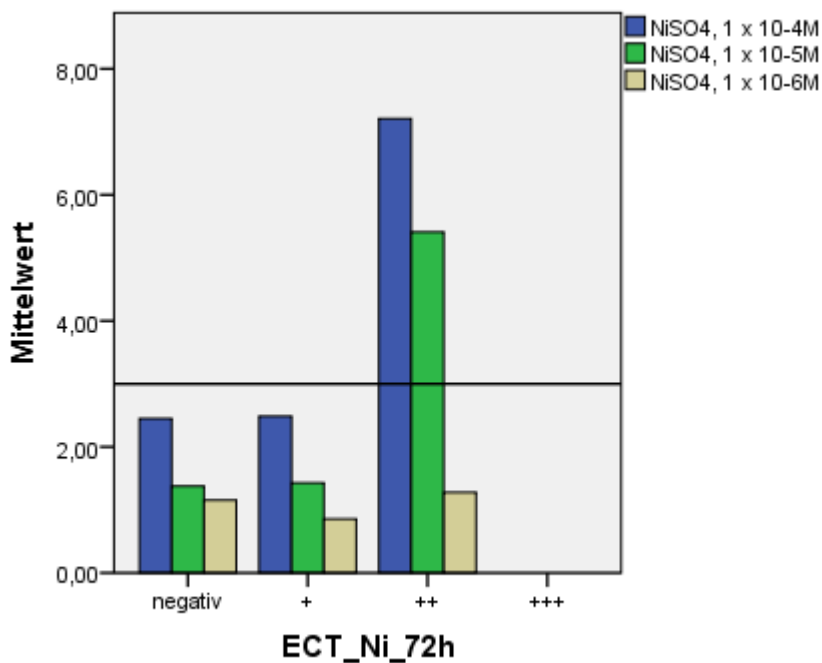


Abbildung 12: Gruppe 4 (45 Patienten) Übereinstimmung zwischen den Reaktionen im ECT und SI-Werten des LTT. Kulturmedium hier mit nicht hitzeinaktiviertem 10% AU-Serum und mit INF- $\alpha$  und 7 Nickelkonzentrationen. Angegeben sind Mittelwerte des SI (Stimulationsindex).

## Ergebnisse

---

In der letzten Gruppe, in der 60 Patienten eingeschlossen sind zeigt sich zwischen dem LTT, durchgeführt anhand von drei Nickelkonzentrationen und Zusatz von 10% AB-Serum mit oder ohne INF- $\alpha$  Zusatz und ECT (hier auch keine dreifach positive Reaktionen vorhanden) eine deutlich niedrigere Übereinstimmung.



**Abbildung 13: Gruppe 5 (60 Patienten) Übereinstimmung zwischen den Reaktionen im ECT und SI-Werten des LTT. Kulturmedium hier mit hitzeinaktiviertem 10% AB-Serum mit INF- $\alpha$  und 3 Nickelkonzentrationen. Angegeben sind Mittelwerte des SI (Stimulationsindex).**

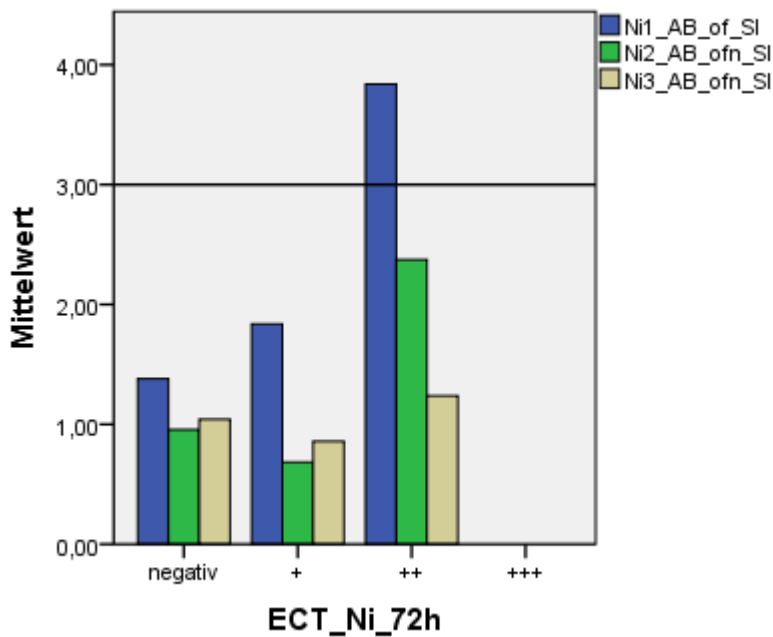


Abbildung 14: Gruppe 5 (60 Patienten) Übereinstimmung zwischen den Reaktionen im ECT und SI-Werten des LTT. Kulturmedium hier mit hitzeinaktiviertem 10% AB-Serum ohne INF- $\alpha$  und 3 Nickelkonzentrationen. Angegeben sind Mittelwerte des SI (Stimulationsindex).

Zusammenfassend ist die Nickelkonzentration  $\text{NiSO}_4$ ,  $1 \times 10^{-4} \text{M}$ , unter welcher auch ECT negative Patienten öfter positive SI-Werte zeigen als zu hoch bzw. „oft unspezifisch“ mitogen zu werten. Demgegenüber besitzt die Konzentration  $\text{NiSO}_4$ ,  $1 \times 10^{-6} \text{M}$  eine deutlich niedrigere mitogene Aktivität; auch bei deutlich sensibilisierten Patienten mit dreifach positiven ECT Reaktionen zeigte sich keine erhöhte Proliferationsrate der Lymphozyten. Anders verhalten sich die s.g. mittleren Nickelkonzentrationen:  $\text{NiSO}_4$ ,  $2,5 \times 10^{-5} \text{M}$ ,  $\text{NiSO}_4$ ,  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  und  $\text{NiSO}_4$ ,  $5 \times 10^{-5} \text{M}$ . Sie zeigen deutlich erhöhte SI-Werte bei stärker positiven ECT Reaktionen und gleichzeitig ist eine geringe Anzahl positiver SI-Werte unter ECT negativen Personen zu verzeichnen.

#### 4.4. Gibt es Unterschiede bei den SI-Werten zwischen Implantat Trägern und Blutspendern ohne Implantat?

Für die Klärung dieser Fragestellung wurde ein Mittelwertvergleich der nicht normal verteilten LTT- Werte durch den U-Test von Mann und Whitney zwischen diesen zwei Gruppen durchgeführt. Um die Verfälschung der Ergebnisse zu vermeiden wurden hierbei Sensibilisierungen gegenüber Metallen, nachgewiesen mittels ECT berücksichtigt.

## Ergebnisse

Es konnte kein statistisch signifikanter Unterschied der LTT-Ergebnisse nachgewiesen werden. Die Ergebnisse sind in den folgenden Abbildungen 15 bis 20 dargestellt.

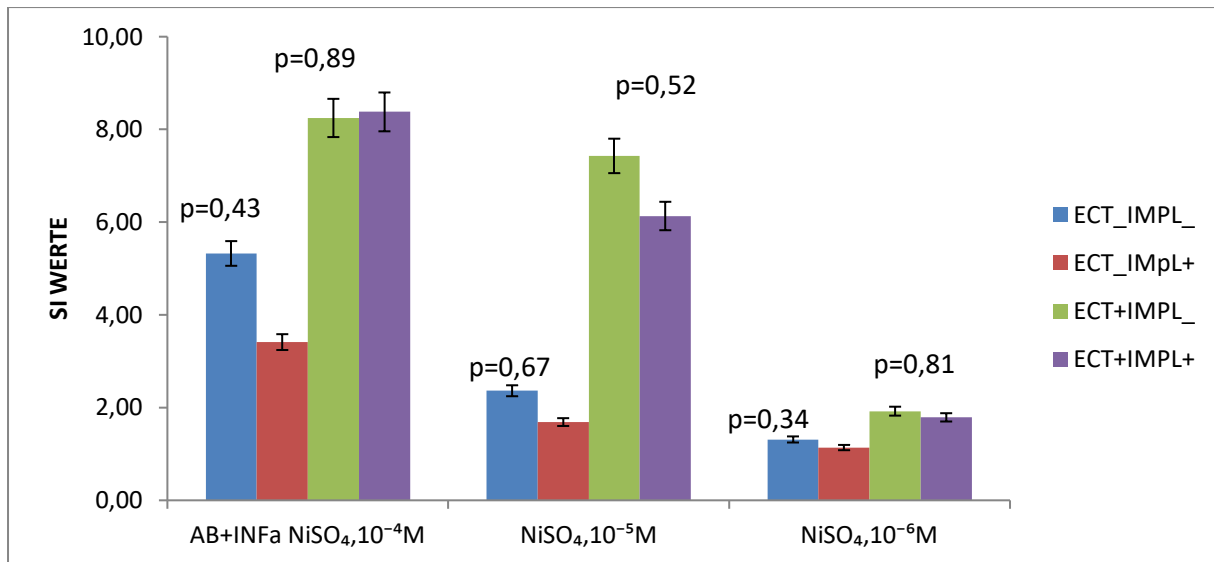


Abbildung 15: Vergleich der SI-Werte des LTT zwischen Implantatträgern (IMPL+) und Blutspendern ohne Implantate (IMPL\_) unter Berücksichtigung ECT Reaktion. LTT - Kulturmedium mit 10% AB-Serum und mit INF- $\alpha$  Zusatz und drei Nickelkonzentrationen.

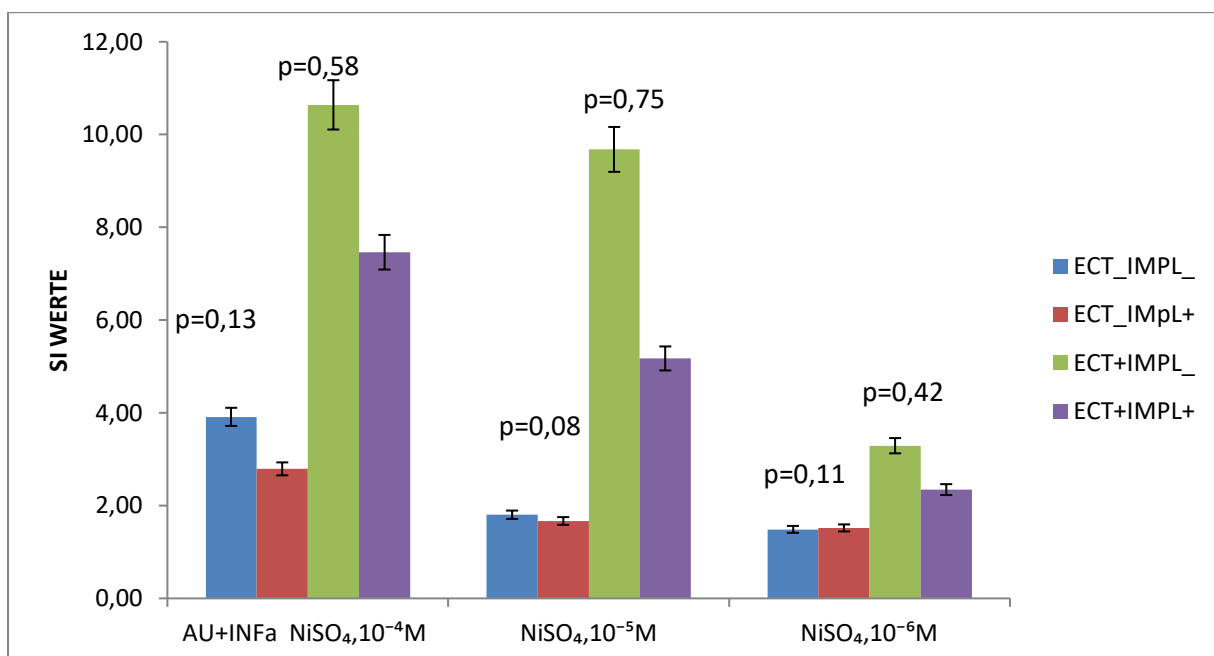


Abbildung 16: Vergleich der SI-Werte des LTT zwischen Implantatträgern (IMPL+) und Blutspendern ohne Implantate (IMPL\_) unter Berücksichtigung ECT Reaktion. LTT Kulturmedium mit 10% AU-Serum und mit INF- $\alpha$  Zusatz und drei Nickelkonzentrationen.

## Ergebnisse

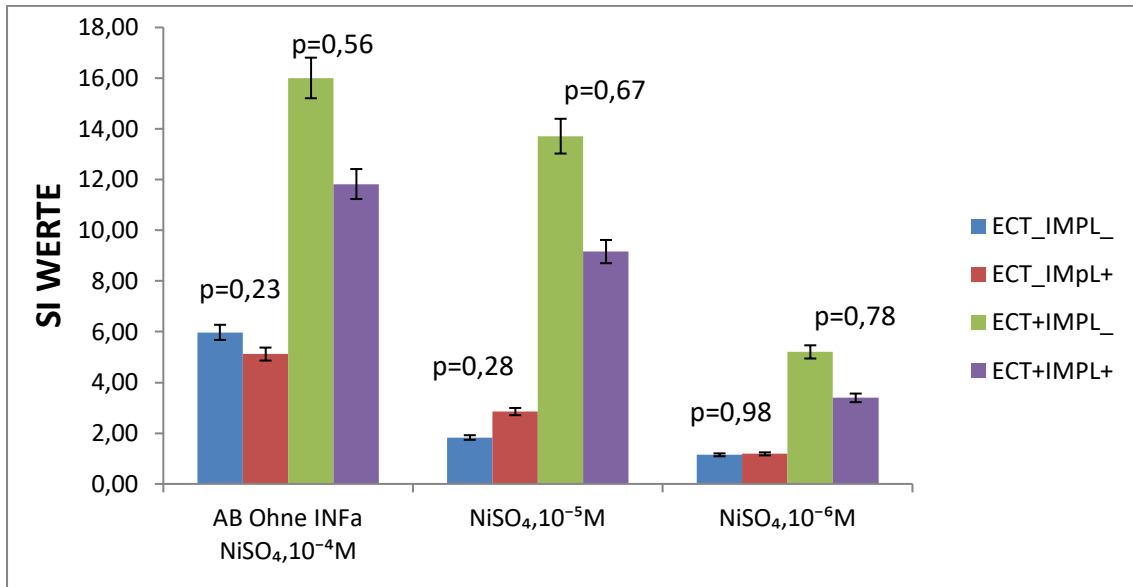


Abbildung 17: Vergleich der SI-Werte des LTT zwischen Implantatträgern (IMPL+) und Blutspendern ohne Implantate (IMPL\_) unter Berücksichtigung ECT Reaktion. LTT Kulturmedium mit 10% AB-Serum ohne INF-α Zusatz und drei Nickelkonzentrationen.

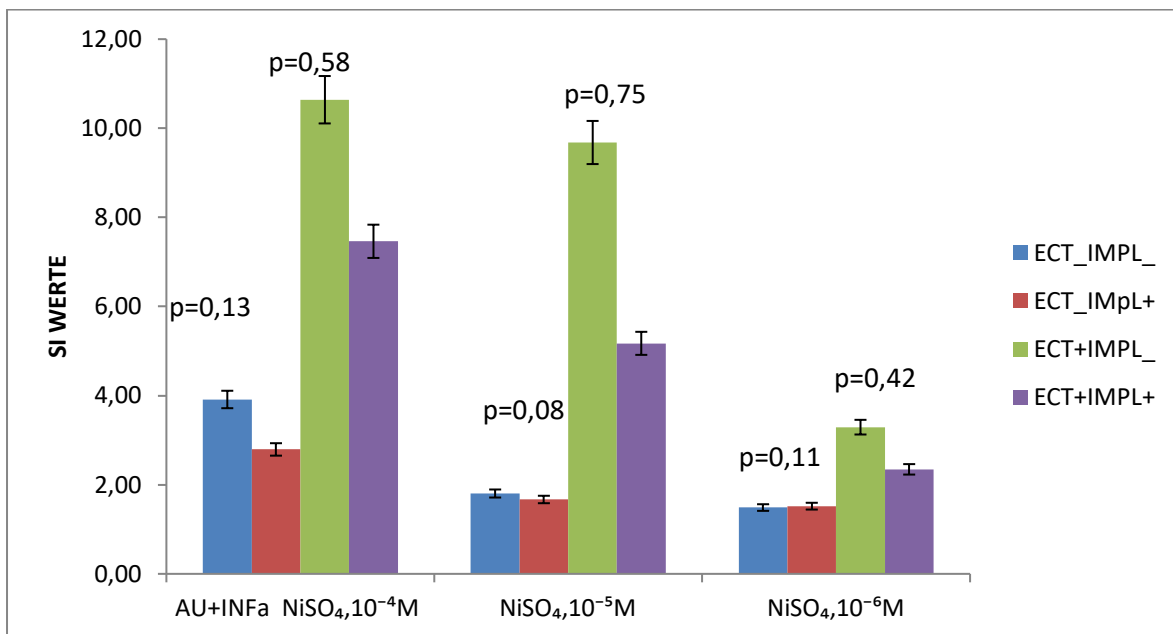


Abbildung 18: Vergleich der SI-Werte des LTT zwischen Implantatträgern (IMPL+) und Blutspendern ohne Implantate (IMPL\_) unter Berücksichtigung ECT Reaktion. LTT Kulturmedium mit 10% AB-Serum ohne INF-α Zusatz und drei Nickelkonzentrationen.



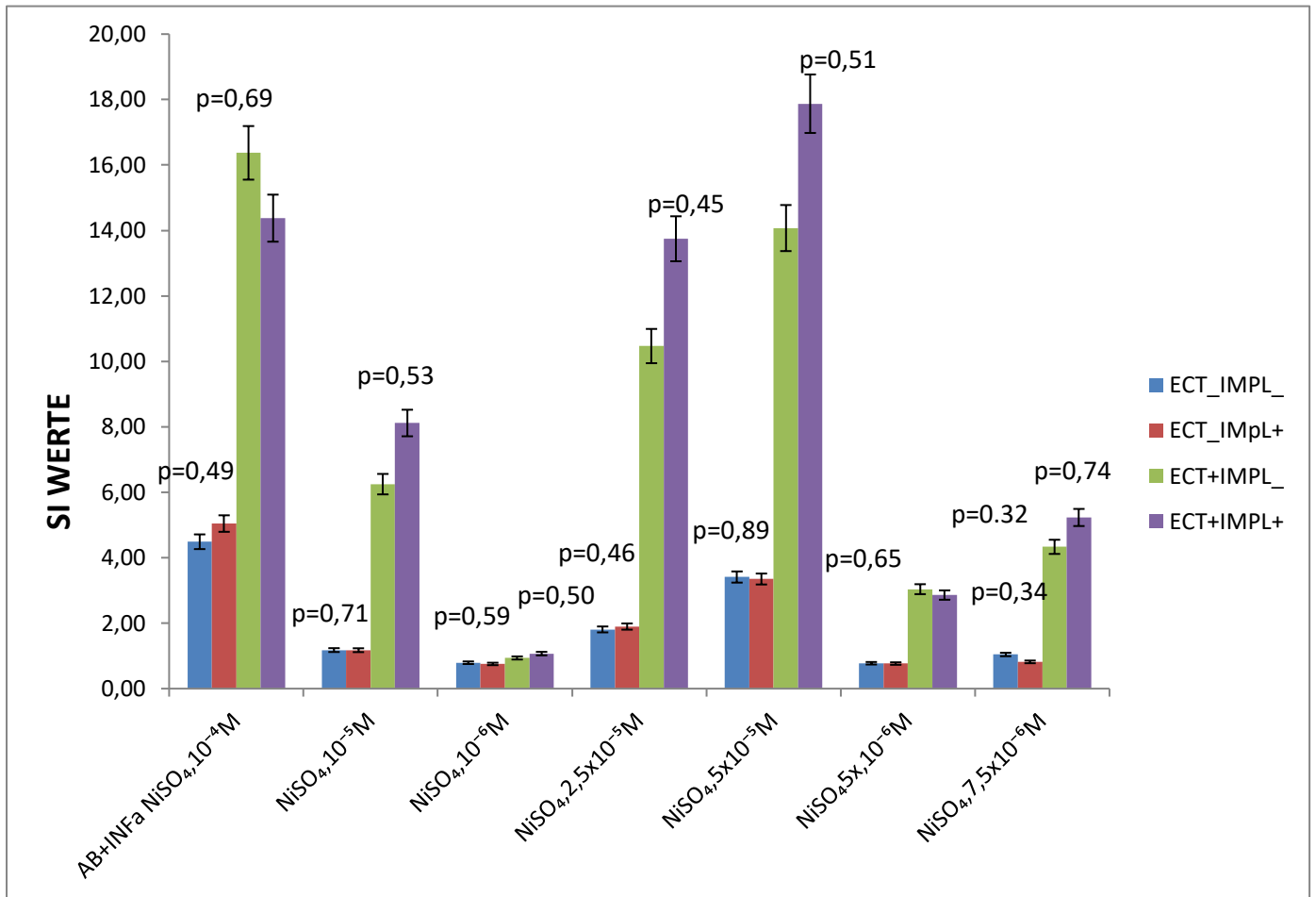


Abbildung 19: Vergleich der SI-Werte des LTT zwischen Implantatträgern (IMPL+) und Blutspendern ohne Implantate (IMPL\_) unter Berücksichtigung ECT Reaktion. LTT Kulturmedium mit 10% AB-Serum und mit INF-α Zusatz und sieben Nickelkonzentrationen.

## Ergebnisse

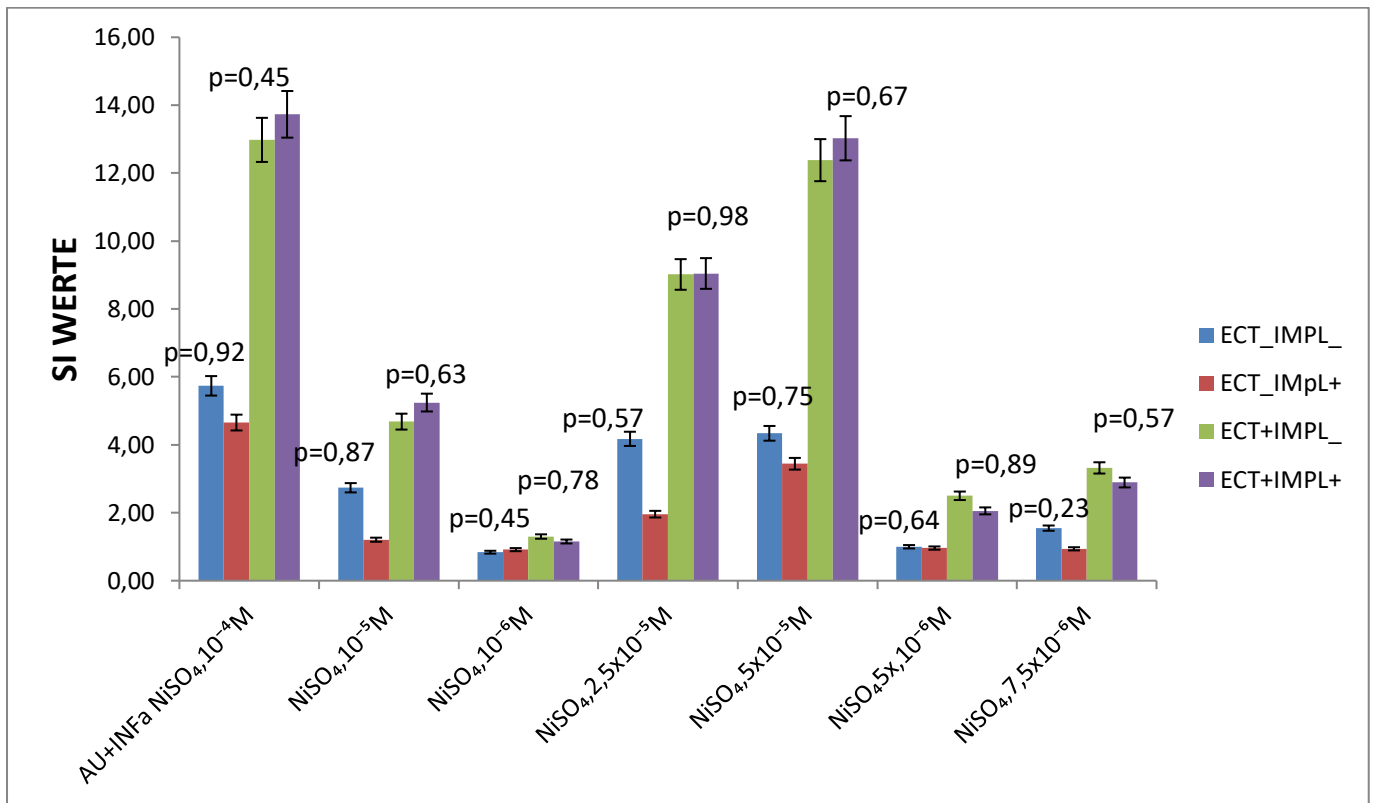


Abbildung 20: Vergleich der SI-Werte des LTT zwischen Implantatträgern (IMPL+) und Blutspendern ohne Implantate (IMPL\_) unter Berücksichtigung ECT Reaktion. LTT Kulturmedium mit 10% AU-Serum und mit INF- $\alpha$  Zusatz und sieben Nickelkonzentrationen.

## 5. Diskussion

### 5.1.Übersicht Metallallergie

Typischerweise entwickelt sich eine Metallallergie im frühen Lebensalter durch einen prolongierten oder wiederholten Hautkontakt mit den Gebrauchsgegenständen des täglichen Lebens wie Schmuck, Kleidungsstücke (z.B. Jeansknöpfe, Reißverschlüsse), Leder oder Mobiltelefone. Speziell das Ohrlochstechen und der Erstkontakt mit nickelhaltigen Ohringen können eine Nickelallergie bahnen [50-60]. Dabei sind die Metalle oft als Legierungen vorhanden. Metalle nehmen eine Sonderstellung unter Hautallergenen ein; trotz ihrer niedriger Anzahl gegenüber organisch-irritativen Substanzen bewirken sie oft eine Sensibilisierung und Dermatitis im Rahmen einer Exposition. Während des Kontaktes einer Metallfläche mit dem Schweiß werden Metallionen freigesetzt, binden an epidermale Proteine und werden dadurch „immunogen“. Die Metalle haben oft unterschiedliche Oxidationsstufen, sodass ein Epikutantest mit Metallsalzen nicht eindeutig dem natürlichen Szenario entspricht [61].

Zusätzlich zur kutanen Exposition kann auch über Metallimplantate – speziell - orthopädisch-chirurgische Materialien – eine Metallallergie gebahnt werden. Nur in Deutschland werden jährlich über 400.000 Hüft- und Knieendoprothesen implantiert; Ein Großteil wird dabei komplikationslos getragen [62]. Bei Komplikationen existieren für Implantat-assoziierte Infektionen oder mechanischen Ursachen gut etablierte diagnostische Verfahren [63,64]. Dagegen ist die Allergie gegen die Implantatbestandteile, über die schon in den 60er Jahren des letzten Jahrhunderts berichtet wurde, nicht allseits anerkannt [21]. Zur Detektion einer diese Überempfindlichkeit verursachenden Typ IV-Reaktion werden in-vivo und verschiedene in-vitro Methoden angewendet [65].

## **5.2. Wie sensitiv ist der Epikutantest gegenüber der anamnestischen Metallunverträglichkeit?**

### **5.2.1 Häufigkeit einer Kontaktallergie unter implantierten und nicht implantierten Patienten**

Die erste detaillierte Beschreibung (1847) des Epikutantests bei Allergie stammt von dem an der Göttinger Universität beschäftigten deutschen Chemikers Städler [66]. Die etwa vier Jahrzehnte später von Jadassohn eingeführte sogenannte „Applikationsmethode“ kann als Fundament für die heutigen Epikutantests gesehen werden. Den Namen Patch-Test erhielt die Methode von Cooke 1906 [67].

Aktuell ist der Epikutantest eine gut etablierte Methode für die Kontakt-Allergie Diagnostik. Hierbei erhalten die Patienten mit einem anamnestischen /oder klinischen Allergieverdacht – speziell bei Ekzemen – standardisierte Testpräparationen am Rücken für 48 Stunden appliziert. Es existiert neben der Standard-Testreihe (enthält auch Chrom- Kobalt- und Nickel-Testpräparationen) eine Vielzahl an Berufsgruppen – oder Substanzgruppen angepassten Testserien. Einige Studien konnten auch eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zeigen [68-73]. Die Standardisierung der Untersuchung erleichtert die Vergleiche der Kontaktallergieraten innerhalb- und zwischen verschiedenen Kliniken in unterschiedlichen Ländern mit unterschiedlicher Expositionsfrequenz gegenüber den Allergenen [74]. Wie weit die kutane Reaktivität auf tiefere oder periimplantäre Gewebe übertragbar ist, bleibt unklar. Unter anderem sind die Testergebnisse auch vom Immunstatus der Patienten abhängig [75,76]. Mehrere Autoren betonen dass ein passagerer Metallkontakt mit der Haut während einer Epikutantestung einen permanenten Metallkontakt, besonders im Falle der Metallimplantate nicht optimal widerspiegelt [77,78].

Laut der vom Informationsverbund Dermatologischer Kliniken 2010 veröffentlichten Daten sind natürlich die Kontaktallergieraten bei getesteten „Beschwerdepatienten“ in den Kliniken höher als jene der Allgemeinbevölkerung. In Letzterer sind die Sensibilisierungsraten gegenüber Nickel 13,3 %, gegenüber Kobalt 4,5% und gegenüber Chrom 2,6 %. Dabei war ein Rückgang der Sensibilisierungshäufigkeit im Falle von Nickel besonders bei jungen Frauen nach Inkrafttreten der 2005 revidierten EU-Nickeldirektive erkennbar, auch wenn das Metall weiterhin die Allergen-Liste anführt [32,33]. Auch die Neusensibilisierungsrate gegenüber Chrom ist nach Einführung des chromatreduzierten Zements besonders bei

Maurern, Fliesenlegern und in verwandten Berufen rückläufig [79]. In unserem Patientenkollektiv zeigten sich bei Blutspendern ohne Implantate deutlich hohe Allergieraten (28 %) im Falle von Nickel gegenüber Implantatträgern mit und ohne Beschwerden (15 %) und unterscheiden sich damit deutlich von der D.Granchi et al. publizierten Daten, die mit 10% eine deutlich niedrigere und der Allgemeinbevölkerung ähnliche Sensibilisierungsraten feststellten [80]. Anders sehen die Ergebnissen einer Studie von Atanaskova et al., die eine fast 52 % Kontaktallergie gegenüber Nickel zeigte [81]. Sowohl in dieser Studie als auch in unserem Patientenkollektiv ist die Ursache der höheren Sensibilisierungsrate in einem selektierten Patientengut zu sehen, da die Angaben „Verdacht auf Metallallergie“ zu einer präferentiellen Sprechstundenvorstellung führte. Im Falle Kobalt konnte unter unseren nicht implantierten Patienten ebenfalls höhere Allergie mit 9,6 % als in der Allgemeinbevölkerung beobachtet werden [82,83]. Bezüglich Chrom zeigte sich eine mit der Allgemeinbevölkerung vergleichbare Allergie mit 3,7 %.

Viele Publikationen haben eine deutliche Zunahme der Kontaktallergie unter Metall-Metall-Hüftendoprothesenpaarungen der alten Generation (1975-1990) gezeigt; ca. 25% der implantierten beschwerdefreien und 60% der Implantierten mit Beschwerden weisen laut Studien eine ca. 2 bis 3fache Zunahme der Sensibilisierungsrate gegenüber Metallen auf [80,84-88]. Demgegenüber konnte in anderen Studien keine Änderung der Sensibilisierungsrate gefunden werden. In den Einzelfällen waren initial positive Ergebnisse einer Epikutantestung nach Implantation nicht mehr reproduzierbar [89]. Diese Daten entstammen den Studien, die mit heterogenen Patientenpopulationen und unterschiedliche diagnostischen Methoden durchgeführt wurden und sind mit Vorsicht zu betrachten.

Die In unserem Patientenkollektiv gezeigte 15 % ige Allergie im Falle von Nickel bei den Implantatträgern mit Beschwerden entspricht der von Thomas et al. gefundenen Häufigkeit bei gleichem Patientengut und ist ca. 8% niedriger als die von Granchi et al. beobachtete Häufigkeit [80,90].

### 5.2.2 Sensitivität und Spezifität des Epikutantests

Es gibt zahlreiche Daten über Epikutantestung bei Patienten mit mutmaßlicher Metallallergie; allerdings ist wenig bekannt über seine Gütekriterien. Dazu tragen mehrere Faktoren bei: einerseits erfordert die Ablesung der Ergebnisse ein gut eingeschultes, erfahrenes Personal um falsche Bewertung der Ergebnisse zu vermeiden [83]. Andererseits bezweifeln einige Wissenschaftler die Richtigkeit der Methodik zur Detektion einer Hypersensibilität, welche in tiefen Gewebsschichten abläuft [91]. Und schließlich muss der aus Patientensicht berichtete „Allergieverdacht“ ja keineswegs „Allergie“ bedeuten, sondern kann auch fehlinterpretierte Hautirritation sein.

Die klinische Anwendung eines diagnostischen Tests kann bei unbekannter Prävalenz der zu untersuchenden Erkrankung zu falschen Interpretationen führen. So wurden für unser Patientenkollektiv anstatt der sonst hilfreichen Charakteristika eines diagnostischen Tests wie positive und negative prädiktive Werte sogenannte Likelihood-Quotienten berechnet. Wie in der Tab.3 zu sehen ist, war die Spezifität des Epikutantests für alle drei Metalle ausreichend groß. Die niedrigste Sensitivität wurde für Chrom beobachtet mit 4 % bei Ablesungen nach 72 Stunden, gefolgt von Kobalt, die nach 7 tägiger Ablesung nur 13 % betrug.

Eine deutlich höhere Sensitivität war im Falle von Nickel zu beobachten, die besonders bei späteren Ableseergebnissen bis zu 38 % zunahm. Allerdings war dabei eine Abnahme der Spezifität von 96 % auf 92 % zu verzeichnen. Demgegenüber konnte in einer Studie von D. Granchi et al. eine ca. 100 % ige Sensitivität allgemein gegenüber Metalle ohne genaue Unterteilung bei einer 64 % igen Spezifität beobachtet werden. In einer Arbeit von Böhm et al. aus den 90iger Jahren wurde eine 65 % ige Übereinstimmung zwischen anamnestischen Metallallergie und ECT nachgewiesen [92].

### **5.3 Welcher LTT-Ansatz korreliert am besten mit dem ECT und stimmen die SI-Werte mit Stärke der ECT-Reaktion überein?**

Auf Grund oben diskutierter Limitation des ECT wird seit über 40 Jahren nach alternativen bzw. ergänzenden In-vitro Methoden der Allergiediagnostik gesucht. Einer davon ist der LTT, der meistens als eine wissenschaftliche Zusatzmethode im Rahmen der Diagnostik einer Medikamentenüberempfindlichkeit eingesetzt wird [93]. Dieser Test, der auch in der Metallallergiediagnostik bei großen Patientenkollektiven bisher nicht ausreichend evaluiert ist liefert eine ergänzende Information zum ECT. Anhand dieser Methode können Aussagen über die Sensibilisierung gegenüber einem untersuchten Allergen gemacht werden; dabei bleibt unklar ob dieses Allergen (Antigen) für eine krankmachende Überempfindlichkeit auch tatsächlich verantwortlich ist [94]. Unterschiedlich wird auch die Grenze des Stimulationsindex (SI), als Hinweis auf Sensibilisierung gesehen; Hallab et al. werten SI-Werte ab 2 als positiv [95]. Demgegenüber werteten Thomas et al. wie auch in dieser Arbeit Ergebnisse erst ab einem SI-Wert von 3 als positiv [96].

Bei der Durchführung des LTT werden für die Stimulation neben unterschiedlichen Kulturmedien auch verschiedene Metallkonzentrationen verwendet. Als optimale Nickelkonzentration wird von der Arbeitsgruppe Hallab et al.  $\text{NiSO}_4$ ,  $1 \times 10^{-4} \text{M}$  angegeben unter Zusatz von 10% AU-Serum zum Kulturmedium [95,97]. Die in unserer Arbeit festgestellte Übereinstimmung, entsprechend dem Korrelationskoeffizienten zwischen 0,14 bis 0,71, mit den höchsten Werten ergab sich für den LTT-Ansatz der mittels folgender Nickelkonzentrationen durchgeführt wurde:  $\text{NiSO}_4$ ,  $2,5 \times 10^{-5} \text{M}$ ,  $\text{NiSO}_4$ ,  $1 \times 10^{-5} \text{M}$ ,  $\text{NiSO}_4$ ,  $5 \times 10^{-5} \text{M}$  sowie Zusatz von 10% nicht hitzeinaktiviertem AB- oder AU-Serum. Dies entspricht gewissermaßen den vom M. Lindemann et. al. verwendeten Konzentrationen:  $\text{NiSO}_4$ ,  $5 \times 10^{-5} \text{M}$ ,  $\text{NiSO}_4$ ,  $7,5 \times 10^{-5} \text{M}$  [98]. Auch bezüglich des Kulturmediums des LTT, das eine bedeutende Rolle für eine bessere Stimulierbarkeit der PBMC spielt gibt es in den Publikationen keine einheitlichen Angaben [97,99-101]. Neben hitzeinaktiviertem AB- und AU-Seren mit und ohne  $\text{INF-}\alpha$ -Zusatz wurden in diesen Versuchsserien auch nicht hitzeinaktiviertes Serum verwendet, unter denen in den drei oben erwähnten Nickelkonzentrationen die höchste Koinzidenz von Epikutantestreaktion und LTT-Reaktion beobachtet werden konnte. Allerdings ist dieses Ergebnis bei kleiner Fallzahl- 45 Patienten- mit Vorsicht zu betrachten. Allgemein gibt es in der Literatur wenige Angaben über die Übereinstimmung der Ergebnisse dieser zweier diagnostischer Tests. In ihrer Arbeit

bestimmten Cederbrant et al. Sensitivität und Spezifität des LTT gegenüber dem ECT unter anderen Metallen auch für Nickel; die Zahlen variieren entsprechend zwischen 55% - 95% sowie 17% bis 79% und zeigen besonders im Falle positiver Ergebnisse eine relativ gute Übereinstimmung [102]. Laut norwegischen Daten aus Maxillofacialer Prothetik bestehe unter einer Nickelkonzentration von 0,5 µg/ml eine gute Koinzidenz zwischen LTT und ECT, ohne genauere Angaben über die statistische Stärke [103]. Lindemann et al. gaben eine hohe Korrelation ( $r_s$  0,74) zwischen LTT und ECT an, allerdings bleibt unklar unter welchen, von den zwei durch die Autoren favorisierten Nickel-Konzentrationen die Korrelationsanalyse durchgeführt wurde [98]. Eine niedrigere Zahl 0,41 - 0,46 nimmt der Korrelationskoeffizient in der 1986 veröffentlichten Arbeit von Al-Tawil et al. an [39, 104]. Räsänen et al. berichteten über eine statistisch signifikante Übereinstimmung zwischen ECT und LTT durchgeführt mittels im Vergleich zu unseren Ergebnissen zehnfach niedrigeren Nickelkonzentrationen: 1.6µg/ml, 3.1µg/ml und 6,3 µg/ml [105]. Der Korrelationskoeffizient in der Arbeit von Gawkrödger et al. zwischen LTT unter dem laut Autoren optimalsten Nickelkonzentration 5µg/ml und ECT beträgt max. 0,38 unter Berücksichtigung der SI-Werte gegenüber der Stärke der Epikutantestreaktion [106]. Eine spanische Arbeitsgruppe fand unter ECT negativen Patienten keinen einzigen positiven LTT [107]. Demgegenüber zeigten 16 von 18 ECT negativen Patienten positive LTT Reaktionen bei Nickelkonzentrationen von NiSO<sub>4</sub>, 1x10<sup>-7</sup> M bis NiSO<sub>4</sub>, 1x10<sup>-4</sup> in der Studie von Lisby et al. [108]. Erst Jahre nach der Durchführung der oben beschriebenen Experimente wurden von Pacheco et al. [109] sowie Ständer et al. [110]. größere Kollektive zu Evaluierung idealer LTT – Bedingungen bzgl. Nickelstimulation publiziert.



#### **5.4 Unterscheiden sich SI-Werte zwischen Implantatträgern und Blutspendern ohne Implantate?**

Die ersten Lymphozytentransformationstests mit Nickelsulfat wurden unseres Wissens im Jahre 1970 durchgeführt [37,108]. Seitdem wird die Möglichkeit des Tests eine Sensibilisierung gegenüber Metallen aufzudecken unterschiedlich diskutiert. Eine Sensibilisierungsrate gegenüber Metallimplantaten beläuft sich nach Schätzungen von unterschiedlichen Autoren bis auf 65% [95, 111]. Diese hohen Zahlen lassen sich nicht immer mittels LTT bestätigen. Den Unterschied könnten die in den verschiedenen Arbeiten verwendeten unterschiedlichen Metallkonzentrationen im LTT ausmachen [106], wie auch unterschiedliche Patientenkollektive. Zumindest haben Hallab et al., Granchi et al. und auch eigene Untersuchungen mehr in LTT auf Metalle reagierende Personen gesehen, wenn diese Metallimplantate mit Komplikationen hatten [112-114].

Es wurde versucht in dieser Arbeit die Frage nach einer Unterscheidung der Implantatträger und Blutspender ohne Implantate anhand des LTT zu beantworten. Diese Versuche wurden mittels sieben verschiedenen Nickelkonzentrationen und unterschiedlichen Zusatzmedien durchgeführt. Unter Berücksichtigung der ECT-Reaktionen konnten keine statisch signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Diese Beobachtung entspricht nicht eindeutig der in den anderen Studien beobachteten Überzahl der positiven SI-Werte unter Implantatträgern auch ohne Beschwerden [88,95,114-116]. Eine gegensätzliche Ansicht, nämlich dass Metallimplantate nicht zwangsweise zu einer erhöhten Sensibilisierung gegenüber Metallen führen können wird in einigen Studien bekräftigt [80,92]. Insgesamt lässt sich sagen, dass mehr Studien mit Vergleichskollektiven beschwerdefreier Implantatträger nötig sind.

### 6 Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden Epikutantest- und LTT- Ergebnisse verglichen bei Patienten, die zwischen 2005 und 2010 in der Münchner Implantatallergiesprechstunde bei Verdacht auf Metallunverträglichkeit untersucht wurden. Es wurden Daten von 816 Patienten, davon 623 Implantat- Träger (372w, 214m) und 181(158w, 23m) Blutspender ohne Implantate, die neben Anamnese ECT und LTT beinhalten, ausgewertet.

Fast 20 % der Implantatträger und ca. 40% der Blutspender ohne Implantate zeigten positive ECT Reaktionen auf Nickel. Die Anzahl der positiven ECT Reaktionen auf Chrom und Kobalt waren deutlich niedriger. Bei anamnestischer kutaner Metallunverträglichkeit war die ECT - „Erfolgsrate“ bei 38 % im Falle von Nickel, gefolgt von Kobalt mit max. 13 % und Chrom mit nur 4 %. Natürlich bestand auch ein Selektionsbias, da bei entsprechender Anamnese präferentiell eine Sprechstundenvorstellung erfolgte.

Der LTT wurde in diesem Patientengut mittels verschiedenen Metallkonzentrationen und Zellkulturmedienzusätzen wie mit oder ohne INF-a, hitzeinaktivierten und nicht hitzeinaktivierten AB - oder AU-Serum durchgeführt. Durch die sehr niedrige Anzahl der positiven LTT- Reaktionen (SI-Werte >3) gegenüber Kobalt und Chrom wurden nur Daten für Nickel aufbereitet. Es wurde hinterfragt welcher LTT- Ansatz mit ECT am besten korreliert und ob auch eine Übereinstimmung der Reaktionsstärken innerhalb dieser zwei Methoden vorhanden ist. Hierbei ergaben sich als optimale Konzentration  $\text{NiSO}_4$ ,  $2,5 \times 10^{-5}$  M,  $\text{NiSO}_4$ ,  $5 \times 10^{-5}$  M unter Zusatz von 10% nicht hitzeinaktiviertem AB-Serum zum Zellkulturmedium. Diese Daten waren Ausgangsbasis für spätere Optimierungsansätze zur LTT- Durchführung.

---

## 7 Anhang

### Fragebogen zu Metallverträglichkeit

(Prof. Dr. P. Thomas, Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der LMU München)

..... Datum .....

(Name, Vorname)

.....

(Geburtsdatum) Geschlecht: m/w

Bitte zutreffende Antworten ankreuzen bzw. ergänzen.

#### 1. Eigene Vorgeschichte

##### Berufsanamnese:

- ◆ Welchen Beruf üb(t)en Sie aus? \_\_\_\_\_
- ◆ Haben Sie dabei Metallkontakt? Nein Ja, mit \_\_\_\_\_

##### Allgemeines:

- ◆ Rauch(t)en Sie ,Zigaretten?  
Ja (Anzahl/Tag....., seit.....) Nein
- ◆ Nehmen Sie Medikamente ein?  
Ja Nein  
(Welche.....  
.....) seit  
wann.....)

##### Vorerkrankungen

##### Operationen

- ◆ Wurden Sie bereits operiert? Nein  
Ja (Wann und welcher Eingriff.....  
.....)

## Anhang

---

Gab es dabei Probleme?

Ja (Eingriff.....  
Probleme.....)

- ◆ Wurden bereits Metallimplantate eingesetzt? Nein  
Ja Hüfte, Knie, Knochennagelung, Verschraubung sonstiges Körperseite:  
rechts, links. Wann.....

Aus welchem Material?.....

Zementiert Nein Ja

- ◆ Haben Sie heute Beschwerden im Zusammenhang mit dem Metallimplantat?  
Nein

Ja(Welche? Schmerzen, Schwellung, Rötung, Bewegungseinschränkung

sonstige.....)

### **Allergische Erkrankungen**

- ◆ Sind folgende Erkrankungen bei Ihnen aufgetreten?

Heuschnupfen Nein

Ja (Seit.....,Beschwerden  
von.....bis.....,wodurch.....  
.....)

Atemnot und/oder Hustenattacken Nein

Ja (Seit.....,Beschwerden  
von.....bis.....,wodurch.....  
.....)

Hautausschlag (Rötung oder Quaddeln oder Ekzeme)

- Durch Medikamente Nein  
Ja (Wann.....,wodurch.....)
- durch Metallkontakt (z.B. Schmuck, Jeansknopf, Uhrarmband) Nein  
Ja(Wodurch.....)
- durch Nahrungsmittel Nein  
Ja (Wodurch.....)
- durch Bienen-/Wespenstich Nein  
Ja (Wodurch.....)
- durch andere Substanzen Nein  
Ja (Wodurch.....)

# Anhang

- ◆ Welche allergischen Erkrankungen wurden bei Ihnen von ärztlicher Seite festgestellt?.....(Testergebnisse.....)
- ◆ Gibt es Probleme bei Gummikontakt (Juckreiz, Rötung, Quaddeln, Ekzeme) durch Gummihandschuhe      Nein    Ja Welche      Seit wann(z.B.)  
.....  
durch Gummistrümpfe      .....  
durch Aufblasen von Luftballons      .....  
durch Benützung von Kondomen      .....  
durch Gummikontakt bei ärztl. Eingriff      .....  
durch sonstige gummihaltige Artikel      .....
- ◆ Haben Sie einen Allergiepass?      Nein  
Ja      (Datum.....,Aussteller.....)  
Was ist dort vermerkt.....)
- ◆ Treten bei Ihnen überschießende örtliche Reaktionen nach **Insektenstichen** auf, wie beispielsweise  
mehrere Tage verbleibende Schwellung      Nein Ja mehrere  
Tage verbleibendeJuckreiz/Rötung      Nein Ja

## 1. Angaben zur Familienvorgeschichte

Sind folgende Erkrankungen in Ihrer Familie aufgetreten?

Nein    Unklar    Ja, bei

(Mutter, Vater, Geschwister, Kinder)

- ◆ Heuschnupfen      \_\_\_\_\_
- ◆ Allergischer Hautausschlag (z.B. Ekzeme oder Quaddeln) durch:
  - Nahrungsmittel      \_\_\_\_\_
  - Medikamente      \_\_\_\_\_
  - Bienen-/Wespenstich      \_\_\_\_\_
- ◆ Atemnot/Hustenattacken („Asthmabeschwerden“)      \_\_\_\_\_
- ◆ Überschießende örtliche Reaktionen (Schwellungen, dicke Narben)auf:
  - Insektenstiche      \_\_\_\_\_
  - Verletzungen      \_\_\_\_\_

## 8 Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. Th. Ruzicka danke ich für die Erlaubnis, meine Doktorarbeit an der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der Ludwig-Maximilians-Universität München durchführen zu können.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. P. Thomas für die Bereitstellung des Themas.

Besonders herzlich möchte ich mich bei Herrn Dr. rer.hum. biol. B. Summer bedanken. Für seine professionelle und stets wohlwollende motivierende Anleitung sowie für seine wertvollen Ratschläge bin ich ihm sehr dankbar.

Für die große Unterstützung bei Auswertung und grafische Aufarbeitung der Arbeit danke ich einer Mitarbeiterin vom IBE im Klinikum Großhadern München.

Außerdem bedanke ich mich bei meiner Familie und meinen Freunden für den liebevollen Beistand.

## 9 Literaturverzeichnis

1. Wintermantel E, Suk-Woo H. Medizintechnik mit biokompatiblen Werkstoffen und Verfahren. 3. Auflage. Springer, Berlin Heidelberg New York 2002 S.122
2. Wiles, P., *The surgery of the osteo-arthritic hip*. Clin Orthop Relat Res, 2003(417): p. 3-16.
3. Gawkrödger, D.J., *Metal sensitivities and orthopaedic implants revisited: the potential for metal allergy with the new metal-on-metal joint prostheses*. British Journal of Dermatology, 2003. **148**(6): p. 1089-1093.
4. Thomas, P., et al., *Orthopädisch-chirurgische Implantate und Allergien*. Der Hautarzt, 2008. **59**(3): p. 220-229.
5. Looney, R.J., et al., *Periprosthetic osteolysis: an immunologist's update*. Curr Opin Rheumatol, 2006. **18**(1): p. 80-7.
6. Schuh, A., et al., *Das Allergiepotezial von Implantatwerkstoffen auf Titanbasis*. Der Orthopäde, 2005. **34**(4): p. 327-333.
7. Wengler A, Nimptsch U, Mansky T: Hip and knee replacement in Germany and the USA—analysis of individual inpatient data from German and US hospitals for the years 2005 to 2011. Dtsch Arztebl Int 2014; 111: 407–16.
8. Davies, A.P., et al., *An Unusual Lymphocytic Perivascular Infiltration in Tissues Around Contemporary Metal-on-Metal Joint Replacements*. The Journal of Bone & Joint Surgery, 2005. **87**(1): p. 18-27.
9. Drees, P., et al., *Mechanisms of Disease: molecular insights into aseptic loosening of orthopedic implants*. Nat Clin Pract Rheum, 2007. **3**(3): p. 165-171.
10. Bader, R., W. Mittelmeier, and E. Steinhauser, *Versagensanalyse von Knieendoprothesen*. Der Orthopäde, 2006. **35**(9): p. 896-903.
11. Wang, M.L., P.F. Sharkey, and R.S. Tuan, *Particle bioreactivity and wear-mediated osteolysis*. The Journal of Arthroplasty, 2004. **19**(8): p. 1028-1038.
12. Elke, R., *Partikelkrankheit*. Der Orthopäde, 2001. **30**(5): p. 258-265.
13. Goodman, S.B., *Does the immune system play a role in loosening and osteolysis of total joint replacements?* J Long Term Eff Med Implants, 1996. **6**(2): p. 91-101.
14. Haddad, F.S., et al., *Hypersensitivity in aseptic loosening of total hip replacements. The role of constituents of bone cement*. J Bone Joint Surg Br, 1996. **78**(4): p. 546-9.

15. Imai, S., et al., *High levels of expression of collagenase-3 (MMP-13) in pathological conditions associated with a foreign-body reaction.* J Bone Joint Surg Br, 1998. **80**(4): p. 701-10.
16. Teeny, S.M., et al., *Long-term follow-up care recommendations after total hip and knee arthroplasty: Results of the american association of hip and knee surgeons' member survey.* The Journal of Arthroplasty, 2003. **18**(8): p. 954-962.
17. Merritt, K. and S.A. Brown, *Distribution of cobalt chromium wear and corrosion products and biologic reactions.* Clin Orthop Relat Res, 1996(329 Suppl): p. S233-43.
18. Coleman, R.F., J. Herrington, and J.T. Scales, *Concentration of wear products in hair, blood, and urine after total hip replacement.* Br Med J, 1973. **1**(5852): p. 527-9.
19. Urban, R.M., et al., *Dissemination of wear particles to the liver, spleen, and abdominal lymph nodes of patients with hip or knee replacement.* J Bone Joint Surg Am, 2000. **82**(4): p. 457-76.
20. Thomas, P., *Allergien durch Implantatwerkstoffe.* Der Orthopäde, 2003. **32**(1): p. 60-64.
21. Fousereau, J. and P. Laugier, *Allergic eczemas from metallic foreign bodies.* Trans St Johns Hosp Dermatol Soc, 1966. **52**(2): p. 220-5.
22. McKenzie, A.W., C.V. Aitken, and R. Ridsdill-Smith, *Urticaria after insertion of Smith-Petersen Vitallium nail.* Br Med J, 1967. **4**(5570): p. 36.
23. Granchi, D., et al., *Sensitivity to implant materials in patients undergoing total hip replacement.* J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2006. **77**(2): p. 257-64.
24. Kubba, R., J.S. Taylor, and K.E. Marks, *Cutaneous complications of orthopedic implants. A two-year prospective study.* Arch Dermatol, 1981. **117**(9): p. 554-60.
25. Eben, R., et al., *Implantatallergieregister – ein erster Erfahrungsbericht.* Der Orthopäde, 2009. **38**(6): p. 557-562.
26. Huber, B., *100 Jahre Allergie: Clemens von Pirquet – sein Allergiebegriff und das ihm zugrunde liegende Krankheitsverständnis.* Wiener klinische Wochenschrift. Vol. 118. 2006: Springer-Verlag. 573-579.
27. Casolaro, V., et al., *Biology and genetics of atopic disease.* Current Opinion in Immunology, 1996. **8**(6): p. 796-803.
28. Grevers G, R.M., *Taschenatlas Allergologie* 2008. S. 28-37, S 64-88.



29. Knop, J., *Kontaktallergie*, in *Fortschritte der praktischen Dermatologie und Venerologie*, G. Plewig and K. Degitz, Editors. 2001, Springer Berlin Heidelberg. p. 15-21.
30. Schafer, T., et al., *Epidemiology of contact allergy in adults*. *Allergy*, 2001. **56**(12): p. 1192-6.
31. Schnuch, A. and W. Uter, *Decrease in nickel allergy in Germany and regulatory interventions*. *Contact Dermatitis*, 2003. **49**(2): p. 107-8.
32. Schnuch, A. and J. Schwitulla, *Decrease in nickel allergy in women after the second EU nickel directive*. *Contact Dermatitis*, 2013. **69**(4): p. 253-256.
33. Geier, J., et al., *[Current contact allergens]*. *Hautarzt*, 2011. **62**(10): p. 751-6
34. Schnuch, A., *Genetik der Kontaktallergie*. *Der Hautarzt*, 2011. **62**(10): p. 732-738.
35. Niebuhr, M., et al., *Kontaktallergie und Atopie*. *Der Hautarzt*, 2011. **62**(10): p. 744-750.
36. Caron, G.A., et al., *Radioactive method for the measurement of lymphocyte transformation in vitrol*. *Lancet*, 1965. **2**(7425): p. 1266-8.
37. Macleod, T.M., F. Hutchinson, and E.J. Raffle, *THE UPTAKE OF LABELLED THYMIDINE BY LEUCOCYTES OF NICKEL SENSITIVE PATIENTS*. *British Journal of Dermatology*, 1970. **82**(5): p. 487-492.
38. Al-Tawil, N.G., et al., *Correlation between quantitative in vivo and in vitro responses in nickel-allergic patients*. *Acta Derm Venereol*, 1985. **65**(5): p. 385-9.
39. Kyle, R.A. and M.A. Shampo, *Nicolas-Louis Vauquelin—Discoverer of Chromium*. *Mayo Clinic Proceedings*, 1989. **64**(6): p. 643.
40. Calnan, C.D., *Cement dermatitis*. *J Occup Med*, 1960. **2**: p. 15-22.
41. Martial R. La 'Gâle' du ciment. *Presse Med* 1908: 64: 507–508.
42. Hansen, M.B., J.D. Johansen, and T. Menné, *Chromium allergy: significance of both Cr(III) and Cr(VI)*. *Contact Dermatitis*, 2003. **49**(4): p. 206-212.
43. Schaulow, I., D. Minkow, and D. Dessew, *[Studies on chromium allergy, nickel allergy and cobalt allergy in cement and building trade workers]*. *Berufsdermatosen*, 1965. **13**(5): p. 276-82.
44. Rystedt, I. and T. Fischer, *Relationship between nickel and cobalt sensitization in hard metal workers*. *Contact Dermatitis*, 1983. **9**(3): p. 195-200.

45. Hindsen, M., L. Persson, and B. Gruvberger, *Allergic contact dermatitis from cobalt in jewellery*. *Contact Dermatitis*, 2005. **53**(6): p. 350-1.
46. Thyssen, J.P., et al., *Cobalt release from inexpensive jewellery: has the use of cobalt replaced nickel following regulatory intervention?* *Contact Dermatitis*, 2010. **63**(2): p. 70-6.
47. Morgan, L.G. and V. Usher, *Health problems associated with nickel refining and use*. *Ann Occup Hyg*, 1994. **38**(2): p. 189-98.
48. Jadassohn, W. and F. Schaaf, *Über die Häufigkeit des Vorkommens von Nিকেlekzemen*. *Archiv für Dermatologie und Syphilis*, 1929. **157**(3): p. 572-577.
49. „Qualitätssicherung beim Lymphozytentransformationstest“ – Addendum zum LTT-Papier der RKI-Kommission „Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin“. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 2008. **51**(9): p. 1070-1076.
50. Suneja, T., K.H. Flanagan, and D.A. Glaser, *Blue-jean button nickel: prevalence and prevention of its release from buttons*. *Dermatitis*, 2007. **18**(4): p. 208-11.
51. Meijer, C., et al., *Ear piercing, and nickel and cobalt sensitization, in 520 young Swedish men doing compulsory military service*. *Contact Dermatitis*, 1995. **32**(3): p. 147-9.
52. Thyssen, J.P. and H.I. Maibach, *Nickel release from earrings purchased in the United States: The San Francisco earring study*. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2008. **58**(6): p. 1000-1005.
53. Thyssen, J.P. and J.D. Johansen, *Mobile phones are now covered by the European Union Nickel Directive*. *Contact Dermatitis*, 2009. **61**(1): p. 56-57.
54. Heim, K.E. and B.A. McKean, *Children's clothing fasteners as a potential source of exposure to releasable nickel ions*. *Contact Dermatitis*, 2009. **60**(2): p. 100-105.
55. Seishima, M., Z. Oyama, and M. Oda, *Cellular Phone Dermatitis with Chromate Allergy*. *Dermatology*, 2003. **207**(1): p. 48-50.
56. Jensen, P., et al., *Nickel may be released from iPhone® 5*. *Contact Dermatitis*, 2013. **68**(4): p. 255-256.
57. Jensen, P., et al., *Nickel allergy and dermatitis following use of a laptop computer*. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2012. **67**(4): p. e170-e171.

58. Friis, U.F., et al., *Allergic nickel dermatitis caused by playing the guitar: case report and assessment of nickel release from guitar strings*. *Contact Dermatitis*, 2012. **67**(2): p. 101-103.
59. Thyssen, J.P., et al., *Coin exposure may cause allergic nickel dermatitis: a review*. *Contact Dermatitis*, 2013. **68**(1): p. 3-14.
60. Thyssen, J.P., et al., *Consumer leather exposure: an unrecognized cause of cobalt sensitization*. *Contact Dermatitis*, 2013. **69**(5): p. 276-279.
61. Lepoittevin, J.P., et al., *Nomenclature of metal allergens in contact dermatitis*. *Contact Dermatitis*, 2011. **65**(1): p. 1-2.
62. Thomas, P., et al., *Orthopädisch-chirurgische Implantate und Allergien*. *Der Orthopäde*, 2008. **37**(1): p. 75-88.
63. Borens, O., S. Corvec, and A. Trampuz, *Diagnosis of periprosthetic joint infections*. *Hip Int*, 2012. **22 Suppl 8**: p. S9-14.
64. Cooper, H.J. and C.J. Della Valle, *Advances in the diagnosis of periprosthetic joint infection*. *Expert Opin Med Diagn*, 2013.
65. Schalock, P.C., et al., *Hypersensitivity reactions to metallic implants – diagnostic algorithm and suggested patch test series for clinical use*. *Contact Dermatitis*, 2012. **66**(1): p. 4-19.
66. Foussereau, J., *History of epicutaneous testing: the blotting-paper and other methods*. *Contact Dermatitis*, 1984. **11**(4): p. 219-23.
67. Lachapelle, J.-M., *Historical Aspects*, in *Contact Dermatitis*, P. Frosch, T. Menné, and J.-P. Lepoittevin, Editors. 2006, Springer Berlin Heidelberg. p. 1-7.
68. Szliska, C. and J. Rakoski, *[Reproducibility of epicutaneous test results]*. *Z Hautkr*, 1988. **63 Suppl 4**: p. 67-9.
69. Gollhausen, R., B. Przybilla, and J. Ring, *Reproducibility of patch tests*. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 1989. **21**(6): p. 1196-1202.
70. Rietschel, R., *Reproducibility of patch-test results*. *The Lancet*, 1996. **347**(9010): p. 1202.
71. Lachapelle, J.M. and J.L. Antoine, *Problems raised by the simultaneous reproducibility of positive allergic patch test reactions in man*. *J Am Acad Dermatol*, 1989. **21**(4 Pt 2): p. 850-4.

72. Lindelof, B., *A left versus right side comparative study of Finn Chamber patch tests in 220 consecutive patients*. Contact Dermatitis, 1990. **22**(5): p. 288-9.
73. Brasch, J., et al., *Reproducibility of patch tests. A multicenter study of synchronous left-versus right-sided patch tests by the German Contact Dermatitis Research Group*. J Am Acad Dermatol, 1994. **31**(4): p. 584-91.
74. Wahlberg, J. and M. Lindberg, *Patch Testing*, in *Contact Dermatitis*, P. Frosch, T. Menné, and J.-P. Lepoittevin, Editors. 2006, Springer Berlin Heidelberg. p. 365-390.
75. Rau, C., P. Thomas, and M. Thomsen, *Metallallergie bei Patienten vor bzw. nach endoprothetischem Gelenkersatz*. Der Orthopäde, 2008. **37**(2): p. 102-110.
76. Hallab, N., K. Merritt, and J.J. Jacobs, *Metal Sensitivity in Patients with Orthopaedic Implants*. The Journal of Bone & Joint Surgery, 2001. **83**(3): p. 428-428.
77. Uter, W., A. Schnuch, and O. Gefeller, *Guidelines for the descriptive presentation and statistical analysis of contact allergy data*. Contact Dermatitis (01051873), 2004. **51**(2): p. 47-56.
78. Diepgen, T.L. and P.J. Coenraads, *Sensitivity, specificity and positive predictive value of patch testing: the more you test, the more you get?* Contact Dermatitis, 2000. **42**(6): p. 315-317.
79. Geier, J., et al., *Occupational contact allergy in the building trade in Germany: influence of preventive measures and changing exposure*. International Archives of Occupational and Environmental Health, 2011. **84**(4): p. 403-411.
80. Granchi, D., et al., *Sensitivity to implant materials in patients with total knee arthroplasties*. Biomaterials, 2008. **29**(10): p. 1494-1500.
81. Atanaskova Mesinkovska, N., et al., *The effect of patch testing on surgical practices and outcomes in orthopedic patients with metal implants*. Archives of Dermatology, 2012. **148**(6): p. 687-693.
82. Hegewald, J., et al., *A multifactorial analysis of concurrent patch-test reactions to nickel, cobalt, and chromate*. Allergy, 2005. **60**(3): p. 372-378.
83. Lepoittevin, J.-P., et al., *Nomenclature of metal allergens in contact dermatitis*. Contact Dermatitis, 2011. **65**(1): p. 1-2.
84. Benson, M.K., P.G. Goodwin, and J. Brostoff, *Metal sensitivity in patients with joint replacement arthroplasties*. Br Med J, 1975. **4**(5993): p. 374-5.

85. *Metal sensitivity before and after total hip arthroplasty.* The Journal of Bone & Joint Surgery, 1977. **59**(7): p. 862-865.
86. Kubba, R., J.S. Taylor, and K.E. Marks, *Cutaneous complications of orthopedic implants: A two-year prospective study.* Archives of Dermatology, 1981. **117**(9): p. 554-560.
87. Thomas, P., et al., [*Characteristics of 200 patients with suspected implant allergy compared to 100 symptom-free arthroplasty patients*]. Orthopade, 2013. **42**(8): p. 607-13.
88. Thomas, P., et al., *Increased metal allergy in patients with failed metal-on-metal hip arthroplasty and peri-implant T-lymphocytic inflammation.* Allergy, 2009. **64**(8): p. 1157-65.
89. Rooker, G.D. and J.D. Wilkinson, *Metal sensitivity in patients undergoing hip replacement. A prospective study.* J Bone Joint Surg Br, 1980. **62-B**(4): p. 502-5.
90. Thomas, P., et al., *Charakteristika von 200 Patienten mit Verdacht auf Implantatallergie im Vergleich zu 100 beschwerdefreien Endoprothesenträgern.* Der Orthopäde, 2013. **42**(8): p. 607-613.
91. Hallab, N., *Metal sensitivity in patients with orthopedic implants.* J Clin Rheumatol, 2001. **7**(4): p. 215-8.
92. Bohm, I., M. Brody, and R. Bauer, *Comparison of personal history with patch test results in metal allergy.* J Dermatol, 1997. **24**(8): p. 510-3.
93. Pichler, W.J. and J. Tilch, *The lymphocyte transformation test in the diagnosis of drug hypersensitivity.* Allergy, 2004. **59**(8): p. 809-820.
94. Thomas, P., et al., *Allergiediagnostik bei Verdacht auf Metallimplantatunverträglichkeit.* Orthopade, 2013. **42**(8): p. 602-6.
95. Hallab, N.J., et al., *Lymphocyte responses in patients with total hip arthroplasty.* Journal of Orthopaedic Research, 2005. **23**(2): p. 384-391.
96. Summer, B., et al., *Nickel (Ni) allergic patients with complications to Ni containing joint replacement show preferential IL-17 type reactivity to Ni.* Contact Dermatitis, 2010. **63**(1): p. 15-22.
97. Hallab, N.J., K. Mikecz, and J.J. Jacobs, *A triple assay technique for the evaluation of metal-induced, delayed-type hypersensitivity responses in patients with or receiving total joint arthroplasty.* Journal of Biomedical Materials Research, 2000. **53**(5): p. 480-489.

98. Lindemann, M., et al., *ELISpot: a new tool for the detection of nickel sensitization*. *Clinical & Experimental Allergy*, 2003. **33**(7): p. 992-998.
99. Cederbrant, K., et al., *Cytokine Production, Lymphocyte Proliferation and T-Cell Receptor V $\beta$  Expression in Primary Peripheral Blood Mononuclear Cell Cultures from Nickel-Allergic Individuals*. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2003. **132**(4): p. 373-379.
100. Bour, H., et al., *Major histocompatibility complex class I-restricted CD8+ T cells and class II-restricted CD4+ T cells, respectively, mediate and regulate contact sensitivity to dinitrofluorobenzene*. *European Journal of Immunology*, 1995. **25**(11): p. 3006-3010.
101. BÜdinger, L., M. Hertl, and L. BÜdinger, *Immunologic mechanisms in hypersensitivity reactions to metal ions: an overview*. *Allergy*, 2000. **55**(2): p. 108-115.
102. Cederbrant, K., et al., *In vitro Lymphocyte Proliferation as Compared to Patch Test Using Gold, Palladium and Nickel*. *International Archives of Allergy and Immunology*, 1997. **112**(3): p. 212-217.
103. Torgersen, S., O.T. Gilhuus-Moe, and N. Roar Gjerdet, *Immune response to nickel and some clinical observations after stainless steel miniplate osteosynthesis*. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 1993. **22**(4): p. 246-250.
104. Altawil, N.G., J.A. Marcusson, and E. Moller, *LYMPHOCYTE-TRANSFORMATION TEST IN PATIENTS WITH NICKEL SENSITIVITY - AN AID TO DIAGNOSIS*. *Acta Dermato-Venereologica*, 1981. **61**(6): p. 511-515.
105. Räsänen, L. and M.-L. Tuomi, *Diagnostic value of the lymphocyte proliferation test in nickel contact allergy and provocation in occupational coin dermatitis*. *Contact Dermatitis*, 1992. **27**(4): p. 250-254.
106. Everness, K.M., et al., *The discrimination between nickel-sensitive and non-nickel-sensitive subjects by an in vitro lymphocyte transformation test*. *British Journal of Dermatology*, 1990. **122**(3): p. 293-298.
107. Gimenez-Camarasa, J.M., et al., *Lymphocyte transformation test in allergic contact nickel dermatitis*. *British Journal of Dermatology*, 1975. **92**(1): p. 9-15.
108. Lisby, S., et al., *Nickel-induced activation of T cells in individuals with negative patch test to nickel sulphate*. *Archives of Dermatological Research*, 1999. **291**(5): p. 247-252.
109. Pacheco K, Barker L, Maier L, Erb S, Sills M, Knight V. Development of a validated blood test for nickel sensitization. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132(3):767-9.

110. Ständer S, Opiel E, Thomas P, Summer B. Evaluation of lymphocyte transformation tests as compared with patch tests in nickel allergy diagnosis. *Contact Dermatitis* 2017;76(4):228-234
111. Hallab, N.J., et al., *Differential lymphocyte reactivity to serum-derived metal-protein complexes produced from cobalt-based and titanium-based implant alloy degradation*. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2001. **56**(3): p. 427-436.
112. Hallab NJ, Anderson S, Stafford T, Glant T, Jacobs JJ. Lymphocyte responses in patients with total hip arthroplasty. *J Orthop Res*. 2005 Mar;23(2):384-91.
113. Granchi D, Cenni E, Trisolino G, Giunti A, Baldini N. Sensitivity to implant materials in patients undergoing total hip replacement. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2006 May;77(2):257-64.
114. Thomas P, Stauner K, Schraml A, Mahler V, Banke IJ, Gollwitzer H, et al. Characteristics of 200 patients with suspected implant allergy compared to 100 symptom-free arthroplasty patients. *Orthopäde*. 2013;42(8):607-13.
115. Hallab, N.J., et al., *Asymptomatic prospective and retrospective cohorts with metal-on-metal hip arthroplasty indicate acquired lymphocyte reactivity varies with metal ion levels on a group basis*. *Journal of Orthopaedic Research*, 2013. **31**(2): p. 173-182.
116. Hallab, N.J., et al., *In vitro reactivity to implant metals demonstrates a person-dependent association with both T-cell and B-cell activation*. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2010. **92A**(2): p. 667-682.